

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades
der Fakultät für Biologie
der Ludwig-Maximilians-Universität München



**Evaluierung frühdiagenetischer Veränderungen
an Knochenmaterial
zur Validierung der Daten gewonnen aus der
Analyse stabiler Isotope leichter Elemente**

Vorgelegt von Nadja Hoke

1. Gutachter: PD. Dr. Albert Zink
2. Gutachter: Prof. Dr. Herwig Stibor

Tag der Abgabe: 24.01.2017

Tag der mündlichen Prüfung: 28.04.2017

Die vorliegende Arbeit wurde dankenswerterweise von dem Graduiertenstipendium der Universität Bayern nach dem Bayerischen Eliteförderungsgesetz (BayEfG) gefördert sowie weiterhin durch das Projekt HA5979/1-1 der Deutschen Forschungsgesellschaft finanziert.

„We tend to think of diagenesis as the mist on the window rather than part of the view“.

Andrew Sillen (1989)

Der Mensch

*Empfangen und genähret
Vom Weibe wunderbar
Kömmt er und sieht und höret
Und nimmt des Trugs nicht wahr,
Gelüstet und begehret
Und bringt sein Tränlein dar,
Verachtet und verehret,
Hat Freude und Gefahr,
Glaubt, zweifelt, wähnt und lehret,
Hält nichts und alles wahr,
Erbauet und zerstöret
Und quält sich immerdar,
Schläft, wachet, wächst und zehret
Trägt braun und graues Haar.
Und alles dieses währet,
Wenn's hoch kommt, achtzig Jahr.
Denn legt er sich zu seinen Vätern nieder,
Und er kömmt nimmer wieder.*

Matthias Claudius (1783)

Inhaltsverzeichnis

1. EINLEITUNG	5
1.1 Fragestellung und Ziel der Arbeit.....	6
1.1.1 Einfluss diagenetischer Vorgänge auf die Validität von Isotopenanalysen	7
1.1.2 Erkenntnisse zur Frühdiagenese	7
1.2 Der Aufbau von Knochengewebe.....	8
1.2.1 Nanostrukturelle Organisation.....	9
1.2.1.1 Die organische Matrix.....	9
1.2.1.2 Die anorganische Komponente des Knochens.....	10
1.2.1.3 Kollagen-Mineral Kompositstruktur	13
1.2.2 Mikrostrukturelle Organisationsformen	14
1.3 Taphonomie.....	16
1.3.1 Dekomposition der organischen Matrix	19
1.3.2 Diagenese des Knochenminerals.....	21
1.3.2.1 Auflösung des Minerals und Rekristallisationsphänomene	22
1.3.2.2 Einwanderung von Fremdionen	23
1.3.2.3 Kontamination mit exogenen Mineralphasen	24
1.3.3 Einfluss intrinsischer und extrinsischer Faktoren auf dekompositionelle Prozesse des Gewebes	25
1.3.3.1 Dekomposition bei Erdbestattung.....	27
1.3.3.2 Dekomposition von oberflächlich deponierten Kadavern.....	28
1.4 Informationspotenzial von Knochengewebe	30
1.4.1 Isotopenanalyse der organischen Knochenkomponente	32
1.4.2 Isotopenanalyse des Knochenminerals	33
1.5 Qualitätssicherung von Isotopenanalysen	35
1.5.1 Marker für die Integrität des Kollagens	36
1.5.2 Methoden zur Erkennung diagenetischer Veränderungen des Minerals	38
2. MATERIAL	43
2.1 Frühdiagenetisch verändertes Knochenmaterial (Westfriedhof München).....	44
2.2 Archäologische Proben.....	47
2.2.1 Bruchsal-Aue	48
2.2.2 Freiham	49
2.2.3 Maisach-Gernlinden	50

2.2.4 Otzing	51
2.2.5 Regensburg-Minoritenweg	51
2.2.6 Burgweinting	52
2.2.7 Sulzbach	52
2.2.8 Kempten	54
2.2.9 Manching-Pichl	55
2.2.10 Altdorf-Düren	55
2.3 Rezent Material humaner Gewebesponder	56
2.4 Rezente Rehknochen	57
3. METHODEN	61
3.1 Qualitative Bodenanalyse	61
3.1.1 Morphologische Methoden	62
3.1.1.1 Bestimmung der Bodenfarbe	62
3.1.1.2 Konsistenz	63
3.1.1.3 Textur	63
3.1.2 Semiquantitative Methoden	63
3.1.2.1 Bestimmung des Carbonatgehalts	63
3.1.2.2 Ermittlung des pH-Werts des Bodens	64
3.2 Entfettung der rezenten Proben	64
3.3 Knochenhistologie	65
3.3.1 Herstellung histologischer Dünnschnitte	65
3.3.2 Mikroskopische Untersuchung und Digitalisierung der Präparate	66
3.3.3 Klassifizierung postmortaler Veränderungen	66
3.3.4 Histopathologie	66
3.4 Experimentelle Degradationsversuche	68
3.4.1 Chemische Degradation frischer Knochen	68
3.4.2 Bakterielle Animpfungsversuche	69
3.4.2.1 Inokulation mit aeroben Mikroorganismen	70
3.4.2.2 Animpfung mit anaeroben Bakterien	72
3.5 Kollagenextraktion	75
3.5.1 Bestimmung des anteiligen Kollagengehalts der Probe	76
3.5.2 Isotopenanalyse und Ermittlung des molaren C/N Verhältnisses	76
3.6 Chromatographische Proteinanalytik (HPLC)	77
3.6.1 Aminosäureanalyse	78
3.6.2 Nachbearbeitung und Auswertung der Chromatogramme	78
3.7 Deproteinierung der Knochenmatrix	79
3.8 Analyse stabiler Kohlenstoff- und Sauerstoffisotope aus dem strukturellen Carbonat	80
3.9 Analytische Messverfahren zur Untersuchung des Knochenminerals	80
3.9.1 Fourier Transform Infrarot-Spektroskopie (FTIR)	81
3.9.2 Raman-Spektroskopie	82
3.10 Statistische Auswertungsverfahren	83
4. ERGEBNISSE	87
4.1 Merkmalsbeschreibung und Untersuchung diagenetischer Veränderungen auf intrastruktureller Ebene	88

4.1.1 Bodenanalyse	88
4.1.2 Makro- und mikrostrukturelle Diagenesemerkmale	90
4.1.2.1 Makroskopisch beobachtbare Merkmale früher Dekompositionsphasen	90
4.1.2.2 Histologische Untersuchungen	93
4.1.3 Charakterisierung des Kollagenerhalts	104
4.1.3.1 Kollagenausbeute nach Extraktion, prozentualer Anteil von C und N und molares C/N-Verhältnis	104
4.1.3.2 Verhältnis der stabilen Isotope von Kohlenstoff und Stickstoff	112
4.1.3.3 Chromatographische Proteinanalytik (HPLC)	118
4.1.4 Untersuchungen am Mineral des Knochens	126
4.1.4.1 Prozentualer Gewichtsanteil der anorganischen Fraktion	126
4.1.4.2 Analyse stabiler Kohlenstoff- und Sauerstoffisotope aus dem strukturellen Carbonat	129
4.1.4.3 Spektroskopische Untersuchungen des Knochens	134
4.2 Intra- und interstrukturelle Zusammenhänge der analysierten Diageneseparameter	145
4.2.1 Intrastrukturelle Zusammenhänge histologisch festgestellter Diageneseparameter	145
4.2.2 Korrelation histologischer Parameter mit dem Erhaltungsgrad von Kollagen	145
4.2.2.1 Bakterielle Zerstörungsmuster	145
4.2.2.2 Organische Kontaminationen	147
4.2.2.3 Rekristallisierung und authigene Kristallformation	147
4.2.2.4 Histopathologie	148
4.2.3 Assoziationen zwischen histologischer Integrität und Alterationen der mineralischen Knochenfraktion	149
4.2.3.1 Bakterielle Bohrkanäle	149
4.2.3.2 Organische Kontaminationen	151
4.2.3.3 Rekristallisierung und authigene Kristallbildung	151
4.2.3.4 Histopathologie	152
4.2.4 Zusammenhänge diagenetischer Merkmale des Kollagens	152
4.2.5 Korrelation mineralischer Indizes und spektraler Besonderheiten	154
4.2.6 Zusammenhang zwischen Kollagenerhalt und mineralischen Indizes	157
4.3 Auswirkungen intrinsischer und extrinsischer Faktoren auf die Integrität des Gewebes	160
4.3.1 Einfluss des Liegemilieus	160
4.3.1.1 Auswirkungen der Bodenparameter auf den mikrostrukturellen Erhalt des Knochens	160
4.3.1.2 Einfluss des Liegemilieus auf den Kollagenerhalt	161
4.3.1.3 Einfluss des Bestattungsmilieus auf die mineralische Matrix	161
4.3.2 Liegezeit	161
4.3.2.1 Zusammenhang zwischen der Liegezeit und histologischen Markern	161
4.3.2.2 Einfluss der Liegezeit auf die Integrität des Kollagens	162
4.3.3 Einfluss von Geschlecht, Sterbealter und Skelettelement auf den Knochenhalt	165
4.3.3.1 Auswirkungen auf die mikrostrukturelle Integrität	165
4.3.3.2 Zusammenhänge mit der Integrität des Kollagens	166
4.3.3.3 Korrelationen mit den mineralischen Indizes	167
4.3.4 Weitere extrinsische Faktoren und makroskopisch beobachtbare Besonderheiten	168
4.3.4.1 Einfluss von Bekleidung und Särgen auf den Knochenhalt	168
4.3.4.2 Makroskopische Besonderheiten der frühdiagenetisch beeinflussten Proben	169
4.3.4.3 Taphonomische Besonderheiten der unbestatteten tierischen Vergleichsproben	170
4.4 Implikationen für die Isotopenanalyse aus Kollagen und Mineral	171
4.4.1 Analyse der stabilen Isotope von C und N aus der organischen Knochenfraktion	172
4.4.2 Analyse der stabilen Isotope von C und O aus der mineralischen Matrix	174
5. DISKUSSION	175
5.1 Dekompositionsmerkmale auf nano-, mikro- und makrostruktureller Ebene	175
5.1.1 Einfluss der Bodenbeschaffenheit auf den Knochenhalt	175
5.1.2 Bewertung makro- und mikrostruktureller Diagenesemerkmale	178
5.1.2.1 Makroskopische Besonderheiten der Dekomposition	178
5.1.2.2 Mikrostrukturelle Analysen	181
5.1.3 Degradation des Kollagens	192

5.1.3.1 Zusammenhänge zwischen dem Gewichtsanteil der extrahierten Organik, % C und % N, C/N sowie der Aminosäurezusammensetzung	192
5.1.3.2 Auswirkungen der Kollagendegradation auf das Verhältnis der stabilen Isotope von C und N	207
5.1.4 Beurteilung des Erhalts der mineralischen Matrix.....	213
5.1.4.1 Schwankungen des prozentualen Gewichtsanteils der anorganischen Knochenfraktion.....	213
5.1.4.2 Diageneseverhalten der isotopischen Zusammensetzung des strukturellen Carbonats	215
5.1.4.3 Erkenntnisse aus der spektrometrischen Untersuchung.....	222
5.2 Zusammenhänge diagenetischer Mechanismen.....	230
5.2.1 Zusammenfassung der Simulation der hydrolytischen Degradation.....	230
5.2.2 Mikrobieller Knochenabbau	234
5.3 Implikationen für die Qualitätskontrolle von Isotopenanalysen	239
5.3.1 Evaluation des Vorhersagewerts der untersuchten Marker für Verschiebungen der Isotopenverhältnisse von Kollagen und Mineral	240
5.3.1.1 Beurteilung der Qualitätsmarker für Verschiebungen von $\delta^{13}\text{C}$ und $\delta^{15}\text{N}$	240
5.3.1.2 Beurteilung der Qualitätsmarker für Verschiebungen von $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$ und $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$	244
5.3.2 Extrapolation der Ergebnisse auf bodengelagerte, <i>in situ</i> degradierte Proben	247
5.4 Offene Fragen und Ausblick.....	252
6. ZUSAMMENFASSUNG	255
7. LITERATUR	257
8. ANHANG	291
a) Rohdatentabellen	291
b) Analyse der Bodenproben	318
c) Optimierung der Hydrolysebedingungen für die chromatographische Proteinanalytik.....	319
d) Etablierung der Extraktion von Phosphat aus dem Knochenmineral.....	322
e) Hintergründe der FTIR-Messungen	330
f) Hintergründe der Raman-Messungen	331
g) Besonderheiten in der isotopischen Zusammensetzung der frischen Rehknochen	333
h) Literaturverzeichnis Anhang	334
EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG	337
DANKSAGUNG	338

1. Einleitung

Matthias Claudius beschreibt in seinem Gedicht „Der Mensch“ aus der Zeit des Sturm und Drang den aus seiner Sicht hoffnungslosen Kreislauf der Höhen und Tiefen eines Menschenlebens, an dessen Ende unausweichlich und allen gemeinsam der Tod steht, der den Kampf des Lebens als aussichtslos erscheinen lässt und von dem es keine Wiederkehr gibt.

Es stimmt zwar, dass mit dem organismischen Tod die biologische Existenz endet, jedoch sind die Spuren des Lebens keineswegs ausgelöscht und für immer verloren, sondern in den Hartgeweben des Körpers gespeichert und können über einen großen Zeitraum überliefert und erhalten werden. So ist es möglich, noch lange nach dem Tod eines Individuums anhand seiner Knochen und Zähne Lebenslaufparameter wie die Ernährungssituation, Krankheitsgeschehen, bestimmte Verhaltensmuster, die sich auf Skelett und Gebiss auswirken, Wanderbewegungen oder die geographische Herkunft zu rekonstruieren (vgl. 1.4). Dies ist insbesondere für das kulturelle Verständnis derjenigen Zeiträume entscheidend, für die es noch keine schriftliche Überlieferung der Lebensumstände der Bevölkerungen gab und somit körperliche Relikte die einzige objektive Informationsquelle darstellen.

Dies setzt jedoch voraus, dass die physiologischen Signale in den Hartgeweben während der Liegezeit des Skeletts konserviert und nicht durch Abbau des Gewebes zerstört oder verfälscht wurden, was die Interpretation der Daten erheblich beeinträchtigen und zu Informationsverlust oder falsch positiven Resultaten führen kann (z.B. Sillen 1989).

Knochen ist ein biologisches Gewebe, dessen organische und anorganische Bestandteile wichtige Nährstoffe für zahlreiche Organismen enthalten (vgl. 1.2) und so früher oder später vollständig abgebaut und wieder dem natürlichen Stoffkreislauf zugeführt werden. Da dieser Vorgang unter anderem auch die Ergebnisse archäometrischer Analysen wie der Untersuchung der isotopischen Zusammensetzung der Gewebe, welche zur Rekonstruktion von Lebensumständen herangezogen werden, verfälschen kann, sind der postmortale Abbau von Knochengewebe, dessen möglichst genaue Charakterisierung und ein gutes Verständnis der beteiligten Mechanismen Gegenstand wichtiger Forschungsfragen. Der aktuelle Kenntnisstand hierzu wird unter Punkt 1.3 zusammenfassend dargestellt.

Um diagenetische Veränderungen erkennen zu können und so eine Fehlinterpretation der Daten zu vermeiden, wurden anhand physiologischer Ausgangsdaten diverse Marker definiert, welche

die Integrität der Daten gewährleisten sollen; jedoch wird deren Aussagekraft, speziell für die anorganische Knochenfraktion, kontrovers diskutiert (z.B. Lee-Thorp und Sponheimer 2003). Auf diese Problematik wird im Abschnitt 1.5 gesondert eingegangen.

Allgemeiner Konsens herrscht darüber, dass die frühe Phase der Diagenese, also die ersten Jahre und Jahrzehnte nach dem Tod des Individuums, die Weichen für das weitere taphonomische Schicksal der Überreste stellt (z.B. Bell et al. 1996, Child 1995a, Collins et al. 2002, Zazzo et al. 2004a). Bislang existieren jedoch nur wenige systematische Studien, die sich mit der Fragestellung der frühen postmortalen Veränderungen des Knochengewebes beschäftigen, und besonders der mineralogische Aspekt bleibt dabei meist weitgehend unberücksichtigt. Die vorliegende Arbeit sollte hier anknüpfen, indem drei verschiedene Stichprobenkomplexe systematisch auf diagenetische Veränderungen der organischen und anorganischen Knochenfraktion untersucht und die Eignung der gängigen Marker für die objektive Darstellung des Erhaltungszustandes ausgewertet wurden. Dadurch sollten Zusammenhänge zwischen den jeweiligen taphonomischen Rahmenbedingungen, dem mikro- und nanostrukturellen Erhaltungszustand des Gewebes sowie interstrukturellen Diageneseeffekten charakterisiert werden.

1.1 Fragestellung und Ziel der Arbeit

Das Ziel der Arbeit konzentrierte sich dabei auf zwei Kernfragestellungen, welche in der praktischen Anwendung der archäometrischen Forschung eine wichtige Rolle spielen:

1. Welche Auswirkungen haben diagenetische Prozesse auf die *in vivo* erworbene Isotopenzusammensetzung von Knochengewebe, und lassen sich diagenesebedingte Modifikationen mithilfe von Markern sicher nachweisen?
2. Welche Rolle kommt der frühen Diagenesephase des Leichnams hinsichtlich des Erhalts von Knochengewebe zu, können Veränderungen der Ausgangsisotopensignatur bereits nach sehr kurzem postmortalen Intervall beobachtet werden, und wie gravierend manifestieren sich diese?

Die Klärung dieser Fragen soll bislang fehlende Bausteine zum Verständnis des postmortalen Knochenabbaus beisteuern und so einen wichtigen Beitrag für die praktische archäometrische Forschung liefern, welche sich auf die Interpretation von Daten aus der Analyse stabiler Isotope aus Knochengewebe stützt.

1.1.1 Einfluss diagenetischer Vorgänge auf die Validität von Isotopenanalysen

Der erste Schwerpunkt lag auf der Untersuchung eventueller Auswirkungen postmortalen Knochenabbaus auf die zu Lebzeiten erworbene isotopische Zusammensetzung des Gewebes, welche für die Rekonstruktion der Ernährung sowie der Herkunft des Individuums verwendet wird (1.4). Degradative Einflüsse können durch eine Veränderung der biogenen Werte potenziell zu gravierenden Fehlinterpretationen führen, daher ist es entscheidend, auf zuverlässige Marker zurückgreifen zu können, welche mit größtmöglicher Sicherheit Modifikationen der *in vivo* erworbenen Isotopenverhältnisse anzeigen können. Neben der Untersuchung postmortaler isotopischer Veränderungen der Elemente Kohlenstoff und Stickstoff aus dem Kollagen sollte insbesondere untersucht werden, ob sich auch für diagenetische Modifikationen der Isotopenverhältnisse von Kohlenstoff und Sauerstoff aus dem strukturellen Carbonat der mineralischen Matrix praktische anwendbare Indikatoren definieren lassen. Zwar werden in der archäometrischen Praxis diverse Kriterien für die Anzeige der Erhaltungsqualität von Knochengewebe angewandt, jedoch sind diese insbesondere hinsichtlich der Aussagekraft für die mineralische Komponente mit großen Unsicherheiten verbunden und daher stark umstritten (siehe 1.5).

Die einzige Möglichkeit, diagenetische Veränderungen und deren Auswirkung auf die isotopische Zusammensetzung der Knochenkomponenten direkt nachvollziehen und somit Kriterien für die kompositionelle und isotopische Integrität des Gewebes identifizieren zu können, ist die experimentelle Degradation frischer Knochenproben. Bei bekannter *in vivo* erworbener Isotopensignatur können so unter kontrollierten Degradationsbedingungen Veränderungen der Werte sicher angesprochen und nachvollzogen werden. Da bislang keine systematischen Studien an humanem Material existieren, die unter kontrollierten, experimentellen Bedingungen die simultanen Veränderungen der organischen und anorganischen Knochenmatrix sowie die Auswirkungen auf die Isotopenverhältnisse sowohl von Kollagen als auch von Carbonat untersuchten, wurde das hydrolytische Degradationsexperiment von Harbeck (2007) bzw. Harbeck und Grupe (2009) im Rahmen der vorliegenden Arbeit wiederholt und entsprechend erweitert.

Da die Versuchsanordnung jedoch nur hydrolytische Abbauwege simulieren konnte und der Effekt mikrobieller Beeinflussung der Knochendegradation, welcher unter natürlichen Dekompositionsbedingungen ebenso eine tragende Rolle spielt, so nicht erfasst werden konnte, wurde das frische Knochenmaterial intentionell mit Mikroorganismen beimpft und über einen längeren Zeitraum inkubiert (vgl. Balzer et al. 1997). Neben der Inokulation der Knochen mit aeroben Bakterien wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit zusätzlich erstmalig die Auswirkungen anaerober Knochendegradation systematisch analysiert.

1.1.2 Erkenntnisse zur Frühdiagenese

Der zweite Hauptaspekt der vorliegenden Arbeit beschäftigte sich mit der grundlegenden Erforschung der frühen postmortalen Phase der Knochendegradation. Obwohl dem Zeitraum unmittelbar bzw. wenige Jahre nach dem Tod generell eine Schlüsselrolle hinsichtlich des diagenetischen

Schicksals von Knochen zugewiesen wird (z.B. Collins et al. 2002, Trueman et al. 2004, Zazzo et al. 2004a), sind die in den Hartgeweben ablaufenden Prozesse während der initialen Diagenese sowie eventuelle Auswirkungen auf die biogene Isotopensignatur des Gewebes unter regulären Bestattungsbedingungen noch nicht systematisch aufgeklärt. Dies ist jedoch nicht nur für das generelle Verständnis diagenetischer Mechanismen und die Extrapolation auf archäologische Funde von Bedeutung, sondern auch für die Isotopenanalytik in forensisch relevanten Fällen von großem Interesse.

Zu diesem Zweck wurde in der vorliegenden Arbeit über einen Zeitraum von 5 Monaten ein einzigartiges Probenkollektiv von 50 Langknochenproben eines modernen Friedhofs akquiriert und anschließend auf diagenetische Veränderungen untersucht. Der Vorteil des Kollektivs bestand in den exakt bekannten Liegezeiten der Knochen sowie den stets dokumentierten Individualdaten. Zusätzlich konnte im Kontext jeder Bestattung eine Bodenprobe entnommen und so das Liegemi-lieu charakterisiert und auf Zusammenhänge mit diagenetischen Prozessen untersucht werden.

In ihrer *in vivo* erworbenen Isotopensignatur postmortal potenziell veränderte Proben sollten mithilfe der nach Kapitel 1.1.1 definierten Diagenesemarker identifiziert und mit den Resultaten des ebenfalls untersuchten archäologischen Probenkollektivs abgeglichen werden.

Postmortale diagenetische Prozesse sollten dabei von pathologischen Vorgängen *in vivo* abgegrenzt werden.

Da eine Vielzahl von Studien, welche sich mit der frühen postmortalen Phase beschäftigen, auf unbestatteten Körpern basieren, wurden als indirektes Vergleichskollektiv die Knochen von unter natürlichen Bedingungen degradierten Rehkadavern untersucht (vgl. Lihl et al. 2013), da der Zugang zu humanem Material hier nicht gegeben war.

1.2 Der Aufbau von Knochengewebe

Um postmortale Modifikationen auf nanostruktureller und biomolekularer Ebene möglichst sicher ansprechen zu können, muss der physiologische Grundzustand des Gewebes, der Aufbau seiner Einzelkomponenten und deren Interaktion genau bekannt sein. Über die detaillierte ontogenetische Entwicklung und den makrostrukturellen Aufbau von Knochen gibt es zahlreiche Übersichts-artikel, auf die an dieser Stelle verwiesen werden soll (z.B. Martin et al. 1998, Turner-Walker 2008, Safadi et al. 2009).

1.2.1 Nanostrukturelle Organisation

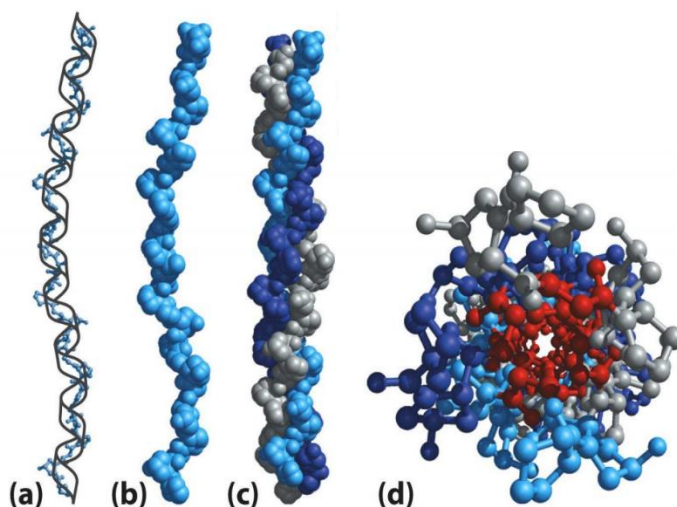
Knochen ist ein komplex hierarchisch aufgebautes Gewebe, dessen Zusammensetzung, Bildung und biomechanische Eigenschaften von zahlreichen verschiedenen Faktoren beeinflusst werden (Carden und Morris 2000).

Ausgereifter menschlicher Knochen besteht zu etwa 65-70 Gewichtsprozent aus anorganischer Mineralsubstanz, zu ca. 20-23 % aus organischem Material und zu 10 % aus Wasser sowie Lipiden (z.B. Monge et al. 2014, Turner-Walker 2008). Die relativen Mengenangaben können dabei je nach Alter des Individuums bzw. des Gewebes, Gewebetyp, Ernährung und Gesundheitszustand leicht variieren (Boskey und Pleshko Camacho 2007).

1.2.1.1 Die organische Matrix

Von den bislang 2479 verschiedenen in Knochengewebe nachgewiesenen Proteinen (Jiang et al. 2007) stellt Kollagen Typ I mit 85-90 % die weitaus häufigste Fraktion (Carden und Morris 2000). Die in ihrer Primärstruktur 1014 Aminosäuren langen Polypeptidketten weisen eine charakteristische Aminosäureabfolge auf, bei welcher Glycin (gly), die kleinste Aminosäure, an jeder dritten Position lokalisiert ist, was der Struktur das generelle Wiederholungsmuster gly-X-Y verleiht (Balzer et al. 1997). Die am häufigsten auftretende Konstellation für die Besetzung der X- und Y-Position ist der Einbau der Iminosäuren Prolin und Hydroxyprolin, die zweithäufigste Variante beinhaltet Lysin und Hydroxylysin (Safadi et al. 2009). Etwa 30 % aller Aminosäuren des Moleküls sind damit Glycin, 14 % Prolin und 11 % Hydroxyprolin (Miller und Gay 1982). Kollagen ist das einzige humane Protein, in welchem Hydroxyprolin in signifikanten Mengen vorkommt. Es bietet dem Molekül einen gewissen Schutz vor der Aktivität von Proteasen und erhöht damit dessen physikochemische Stabilität.

Die Position der Aminosäuren ist entscheidend für die Sekundär- und Tertiärstruktur des Proteins. Die Polypeptidketten sind in einer charakteristischen Konformation aus zwei linksgewundenen α 1-Ketten und einer α 2-Kette organisiert, welche rechtshelical miteinander verwoben sind (Abb. 1.1). Die Abundanz von Glycin führt zu einer sehr engen Windung der Tripelhelix, indem es zu



denen α 1-Ketten und einer α 2-Kette organisiert, welche rechtshelical miteinander verwoben sind (Abb. 1.1). Die Abundanz von Glycin führt zu einer sehr engen Windung der Tripelhelix, indem es zu

Abb. 1.1 Darstellung einer linksgewundenen alpha-Kette des Kollagenmoleküls (a, b). Die scharfen Windungen kommen durch die Aminosäureabfolge Glycin-Prolin-Hydroxyprolin zustande. Drei α -Ketten lagern sich zu einer rechtsgewundenen Tripelhelix zusammen, auch als Tropokollagen bezeichnet (c). Die Aufsicht auf ein Ende der Tripelhelix (d) verdeutlicht die enge Bindung, welche durch die innen liegenden Glycin-Moleküle (rot dargestellt) bedingt ist (aus Lehninger et al. 2004).

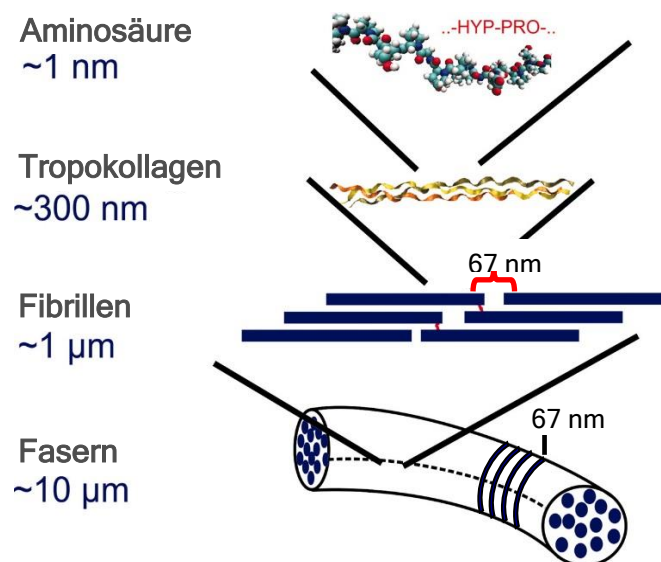
1. EINLEITUNG

Wasserstoffbrückenbindungen zwischen der Aminogruppe des Glycins einer Kette mit einer nicht-Glycin-Carboxylgruppe der benachbarten Kette kommt, was wiederum die Resistenz gegen proteolytische Enzyme erhöht (Child 1995b). Jedes Triplet ist ca. 300 nm lang und weist einen Durchmesser von 1,5 nm auf (DeCupere et al. 2003, Viguet-Carrin et al. 2006). Die Tripelhelices lagern sich durch kovalente, thermodynamisch stabile Quervernetzung an den Positionen 87 und 930 über (Hydroxy-) Lysylreste enzymatisch katalysiert linear-parallel zu Faserbündeln (Mikrofibrillen) zusammen, was in äußerst stabilen, nicht reduzierbaren Aldehyd- oder Pyridinolinverbindungen resultiert (Bailey et al. 1998, Fujimori 1989, Robins und Duncan 1983).

Die etwa 75 nm dicken Mikrofibrillen lagern sich wiederum zu Fibrillen zusammen, welche in alternierender Anordnung in Fasern organisiert sind (Giraud-Guille 1988, Turner-Walker 2008). Die Fibrillen sind nicht kraftschlüssig angeordnet, sondern versetzt zueinander mit ca. 67 nm breiten Lücken zwischen den Enden der Stränge. Dies verleiht den Kollagenfasern bei elektronenmikroskopischer Betrachtung ein charakteristisches Bänderungsmuster (Abb. 1.2).

Die quasihexagonal gepackten Fasern zeichnen sich durch eine extreme Reißfestigkeit aus und können mit dem Zehntausendfachen ihres eigenen Gewichts belastet werden. Damit sind sie belastbarer als ein Stahlseil gleichen Durchmessers (Safadi et al. 2009).

Abb. 1.2 Organisationsschema der hierarchischen Struktur des Kollagens. Die nicht kraftschlüssige Anordnung der Fibrillen, die zu 67 nm breiten Lücken führt, bedingt das charakteristische Bänderungsmuster der Kollagenfasern (verändert nach Buehler 2006).



1.2.1.2 Die anorganische Komponente des Knochens

Die mineralische Komponente des Knochens erfüllt neben den Aufgaben der mechanischen Stabilisierung des Gewebes auch eine wichtige chemische Speicherfunktion für diverse Mengen- und Spurenelemente, welche für den Körper essenziell sind (Burger et al. 2008, Weiner und Wagner 1998, Rogers und Zioupos 1999, Glimcher 2006). Daher stellt sie ein wertvolles Archiv für archäometrische Analysen dar, da sich zu Lebzeiten in den Hartgeweben eines Körpers gespeicherte Ionen dauerhaft erhalten und somit Rückschlüsse auf die Lebensumstände des Individuums gezogen werden können (siehe 1.4.2).

Obwohl die mineralische Matrix des Knochens schon seit Jahrzehnten Gegenstand intensiver Forschungsbemühungen ist (z.B. Beevers und McIntyre 1946, McConnell 1962, Biltz und Pellegrino 1971, LeGeros et al. 1978, Elliott 2002, Cho et al. 2003, Wilson et al. 2005, 2006, Glimcher 2006,

Rey et al. 2009, Pasteris et al. 2014), ist die exakte Struktur des Knochenminerals noch nicht vollständig aufgeklärt.

Bereits vor einem knappen Jahrhundert wurde die Zusammensetzung der Festphase des Knochens mittels chemischer Analysen und Röntgendiffraktometrie von de Jong (1926) als ein dem geologischen Apatit ähnliches, kristallines Calciumphosphat identifiziert. In Abweichung zu in Gesteinsformationen vorkommendem, stöchiometrischem Hydroxylapatit mit der Summen-

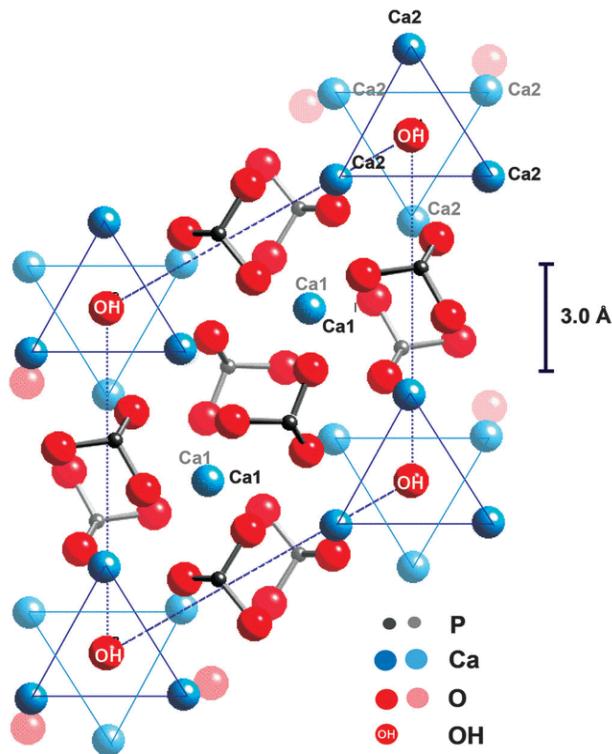


Abb. 1.3 Darstellung des Kristallgitters von Hydroxylapatit (Pasteris et al. 2014). Eine Einheitszelle besitzt vier verschiedene kristallographische Positionen: Die sechs P^{5+} -Ionen sind tetraedrisch mit jeweils vier Sauerstoffatomen koordiniert. Ca^{2+} besetzt zwei verschiedene Gitterpositionen (vier Ca^{2+} -Ionen an Position I, sechs an Position II). Die Ca^{2+} (II)-Ionen bilden durch ihre Anordnung einen Kanal entlang der c-Achse des Kristalls, den sogenannten Anionenkanal. Die dreifach trigonal-planare Position in diesem Kanal wird pro Einheitszelle von zwei monovalenten Anionen besetzt, typischerweise OH^- (Elliott 2002, Hughes und Rakovan 2002, Wopenka und Pasteris 2005).

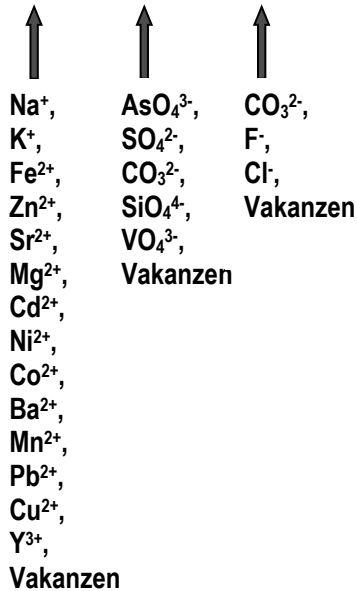
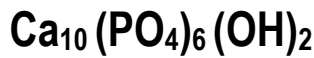
formel $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ (siehe Abb. 1.3) zeigen Knochenmineral-Kristallite einige signifikante Abweichungen, die den besonderen physiologischen Anforderungen an das Gewebe geschuldet sind. Die oft als Bioapatit bezeichnete Mineralkomponente ist gekennzeichnet durch eine Reihe von uneinheitlichen Ionensubstitutionen innerhalb des Kristallgitters. Da die hexagonale Kristallstruktur von Apatitmineralen sehr flexibel ist und damit eine Vielzahl von Ionensubstitutionen toleriert, die lediglich das Gesamtladungsequilibrium des Minerals erhalten und strukturell in das Kristallgitter inkorporierbar sein müssen (Bergslien et al. 2008, Dorozhkin und Epple 2002), sind im Knochenmineral alle Gitterpositionen potenziell von Substitutionen betroffen (z.B. Lebon et al. 2008, Pasteris et al. 2004, Turner-Walker 2008, Thomas et al. 2007).

So kann Ca^{2+} in Spuren durch mono-, di- oder trivalente Metallionen wie Na^+ , K^+ , Fe^{2+} , Zn^{2+} , Sr^{2+} , Mg^{2+} , Cd^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Ba^{2+} , Mn^{2+} , Pb^{2+} , Cu^{2+} und Y^{3+} ersetzt werden (Hughes und Rakovan 2002, Pan und Fleet 2002, Piccoli und Candela 2002), während diverse Oxyanionen wie Carbonat und Arsenat die PO_4^{3-} -Gitterplätze einnehmen können.

Die OH^- -Position kann durch Carbonat oder Halide besetzt werden (Reiche et al. 2003, Skinner 2005, Thomas et al. 2007, Wopenka und Pasteris 2005, siehe Abb. 1.4). Die bedeutendste Ionensubstitution im Kristallgitter von Knochenmineral ist die Inkorporierung von Carbonat, welches etwa 5-8 % des Gesamtgewichts des Minerals ausmacht (Elliott 2002, Gross und Berndt 2002, Penel et al. 1998, Wopenka und Pasteris 2005).

1. EINLEITUNG

Dieser hohe Carbonatanteil des nach geologischer Nomenklatur auch als Dahllit bezeichneten Carbonatapatits ist verantwortlich für die charakteristische plättchenartige Morphologie der



Knochenminerkristallite, da reiner Hydroxylapatit nadel-förmige Kristalle ausbildet (Trueman und Tuross 2002, Weiner und Traub 1992). Die Kristallite sind zudem mit Ausmaßen von 5 x 35 nm bei etwa 2 - 3 nm Dicke deutlich kleiner als die nicht-carbonathaltigen Hydroxylapatits (Bur-ger et al. 2008, Glimcher 2006, Lowenstam und Weiner 1989, Nielsen-Marsh et al. 2000, Rey et al. 2009, Weiner und Wagner 1998).

Abb. 1.4 Aufgrund der flexiblen Kristallstruktur des Apatits können im Knochenmineral an jeder Gitterposition zahlreiche Ionen substituiert werden. Misra (1984) bezeichnete daher die mineralische Komponente des Knochens als mangelhaft kristallinen, kontaminierten Hydroxylapatit. Daher wird auch die modifizierte Strukturformel: $\text{Ca}_{10-x}\text{Vakanz}_x[(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{CO}_3)_x](\text{OH})_2\text{Vakanz}_x$ für die Charakterisierung von Knochenmineral verwendet (Elliott 2002, Pasteris et al. 2012, Rey et al. 2009).

Dabei ist die absolute Größe der Kristallite taxonspezifisch und variiert abhängig vom Knochenalter, der Position im Knochen, vom Knochentyp und der Spezies (Farlay et al. 2010, Jackson et al. 1978, Lowenstam und Weiner 1989, Paschalis et al. 1996, Posner et al. 1965). Ursächlich für die geringe Größe der Kristalle ist der Carbonatanteil des Minerals, da die Inkorporierung von Fremdionen in das Kristallgitter des Hydroxylapatits zu einer Verzerrung der Einheitszellen führt (siehe Abb. 1.5) und damit die maximale Ausdehnung des Kristalls limitiert. Der hohe Carbonatanteil des Knochenminerals wirkt sich jedoch nicht nur auf die Kristallmorphologie aus, er erhöht auch die Löslichkeit der Kristallite, was für die physiologischen Umbauprozesse des Gewebes (Remodeling) von entscheidender Bedeutung ist. Da Knochen während des gesamten Lebens ein hoch reaktives Gewebe ist, muss der Körper in der Lage sein, auch mineralisierte Strukturen um- und abbauen zu können (LeGeros et al. 1967, Turner-Walker 2008, Weiner und Wagner 1998, Ziv und Weiner 1994).

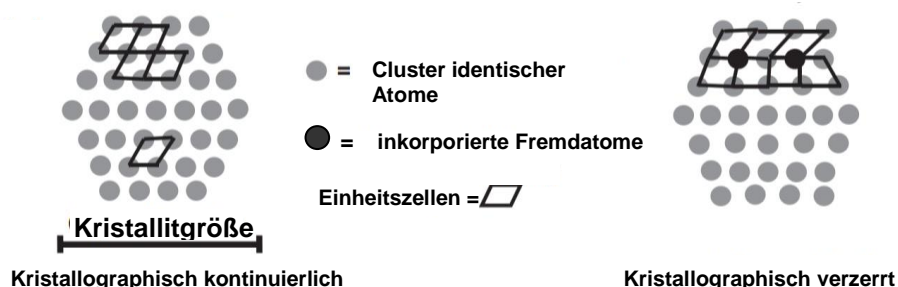


Abb. 1.5 Darstellung der Verzerrung des Kristalls durch die Substitution von Fremdionen wie CO_3^{2-} für PO_4^{3-} in das Gitter von Hydroxylapatit. Das planare CO_3^{2-} ist kleiner als das tetraedrische PO_4^{3-} , was zu einer Kontraktion der Einheitszelle führt. Der hohe Carbonatgehalt des Knochenminerals limitiert dadurch die Größe der Kristalle (verändert nach Wopenka und Pasteris 2005).

Die Position des Carbonats im Knochen

Seit mehr als 40 Jahren wird über die exakte Position des Carbonats sowie das OH-Defizit des Knochenminerals diskutiert, welches lediglich 20 mol % der OH-Konzentration stöchiometrischen Hydroxylapatits enthält (Cho et al. 2003, Pasteris et al. 2004, 2014, Rey et al. 1995, 2009) und daher teilweise nicht als Hydroxylapatit nach der medizinischen Nomenklatur anerkannt wird (Pasteris et al. 2004). Dennoch sind die absolute Struktur des Knochenminerals und die interkristallinen Zusammenhänge noch nicht vollständig aufgeklärt.

Theoretisch kann strukturell in den Hydroxylapatit-Kristall eingebundenes Carbonat *in vivo* zwei verschiedene Positionen einnehmen und dabei entweder PO_4^{3-} oder OH^- ersetzen. Die Nomenklatur der jeweiligen Substitutionsform, „Typ A“ (OH^- -Position) bzw. „Typ B“ (PO_4^{3-} -Position) wurde bereits 1940 durch den Geologen Duncan McConnell etabliert (McConnell und Gruner 1940, in Wopenka und Pasteris 2005). Die Typ B-Substitution ist die deutlich häufigere Form, maximal 15 % der Carbonationen sind an der OH-Position zu finden (Rey et al. 2009). Dies wird auf den zwingend nötigen Ladungsausgleich nach der Typ B-Substitution zurückgeführt, welcher über eine signifikante Verringerung der Hydroxylionenkonzentration erreicht wird.

Die damit frei gewordenen Anionenkanäle, auch Channel-Sites genannt, werden vermutlich durch Wassermoleküle blockiert und verhindern so eine Einlagerung von CO_3^{2-} an dieser Stelle (Pasteris et al. 2004, 2014, Wopenka und Pasteris 2005, Wright und Schwarcz 1996). Mit zunehmendem Alter des Knochens nimmt die Anzahl der Carbonationen in den Anionenkanälen (= Typ A-Position) jedoch zu, was vermutlich auf einen geringeren Wassergehalt des Kristalls zurückgeführt werden kann (Miller et al. 2001, Kuhn et al. 2008).

Neben dem strukturell im Kristallgitter gebundenen Carbonat findet sich weiterhin an der Außenseite des Kristalls umgebenden Hydrathülle locker adsorptiv gebundenes Carbonat in Form von CO_3^{2-} oder HCO_3^- , welches bei Bedarf in den Kristall eingebaut werden kann, aber auch eine entscheidende Rolle bei der Bicarbonatpufferung des Blutes spielt (Posner 1985, Rey et al. 2009).

1.2.1.3 Kollagen-Mineral Kompositstruktur

Die organische und anorganische Knochenfraktion sind eng miteinander verbunden und bilden so die Grundlage für die außergewöhnlichen biomechanischen Eigenschaften des Gewebes *in vivo* und die relativ hohe Resistenz gegenüber degradativen Faktoren nach dem Tod des Individuums (vgl. 1.3).

Das dreidimensionale Netzwerk aus Kollagen Typ I-Fasern wirkt dabei als Gerüst für die Nukleation der plättchenförmigen Mineralkristallite, welche epitaktisch mit ihrer c-Achse entlang der Kollagenfibrillen wachsen und diese dabei maskieren (Ascenzi et al. 2003, Fratzl et al. 2004, McNally et al. 2012, Weiner und Traub 1992, Weiner und Wagner 1998, Weiner et al. 1999; siehe Abb. 1.6). Etwa 20-30 % der Kristallite befinden sich dabei an der Außenseite der Fibrillen (Katz und Li 1973), die restlichen, die gleichförmiger entlang der Faserrichtung angeordnet sind (Fratzl

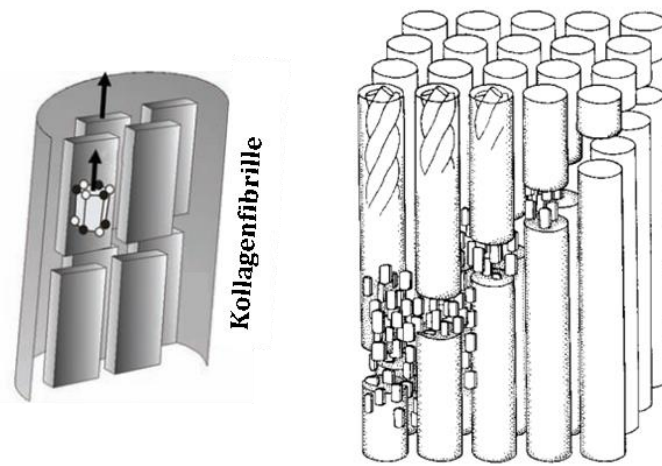


Abb. 1.6 Anordnung der Mineralkristallite innerhalb des Netzwerks aus Kollagenfibrillen. Die Kristalle orientieren sich mit ihrer c-Achse entlang der Fibrillen (nach Seidel et al. 2012 und Turner-Walker 2008).

und Weinkamer 2007, Spiesz et al. 2012), innerhalb der Fibrillen. Dabei sind die kleinen Mineralplättchen nicht lückenlos angeordnet, sondern gegeneinander versetzt. Im lebenden System sind die Lücken zwischen den Kristallen mit organischen Makromolekülen wie Lipiden, nicht-kollagenen Proteinen und Proteoglykanen sowie assoziiertem Wasser besetzt (Malmberg und Nygren 2008). Neben der Rolle der nicht-kollagenen Proteine als Bindeglied zwischen Mineral und Kollagen kommt weiterhin den Hydroxylgruppen der beiden Komponenten eine entscheidende Funktion bei der engen Verbindung zwischen den

Mineralplättchen und den Kollagenfibrillen zu. Es wird diskutiert, dass sich das OH-defizitäre Knochenmineral (siehe 1.2.1.2) und das im Gegensatz dazu stark hydroxylierte Kollagen (siehe 1.2.1.1) OH-Gruppen teilen und so durch den gegenseitigen Ladungsausgleich eng aneinander gekoppelt werden (Farlay et al. 2010, Long et al. 1998, Pasteris et al. 2014).

Die so aufgebaute, eng assoziierte Kompositstruktur des Knochens, welche aufgrund ihrer amorphen und kristallinen Bereiche auch als parakristallin bezeichnet wird (Newesely 1989), ist wasserunlöslich und hoch resistent gegenüber exogenen Noxen, weshalb Knochengewebe auch nach dem Tod des Individuums lange erhalten bleiben kann (siehe auch 1.3.2). So schützt die mineralische Komponente das Kollagen vor Degradation, da es durch die dichte Packung der Kristallite entlang der Fibrillen, ähnlich einem Stützkorsett, einerseits ein Aufquellen der Helices und damit eine mechanische Expansion verhindert (McCutchen 1975, Turner-Walker 2008) und andererseits die Einwirkung bakterieller Proteinasen auf das Polypeptid teilweise unterbinden kann, da die Lücken zwischen den Kristalliten zu klein für die Passage der mikrobiellen Enzyme sind (Gernaey et al. 2001, siehe auch 1.3.2). Aber auch die organische Matrix wirkt sich im Gegenzug schützend auf die Mineralkristallite aus, da die enge Anlagerung der Kristallplättchen an das kollagene Netzwerk die mit 100-200 m² pro Gramm Kristallgewicht sehr große und damit reaktive Oberfläche der Kristallite vor äußeren Einflüssen abschirmt (Newesely 1989, Posner 1985).

1.2.2 Mikrostrukturelle Organisationsformen

Der nanostrukturelle Grundbauplan der mineralisierten Kollagenfasern kann mikroskopisch in verschiedenen Organisationsformen angeordnet sein, die der jeweiligen biomechanischen Beanspruchung des Gewebes Rechnung tragen und ein Leben lang der Anpassung (Remodeling) un-

terworfen sind. Dies führt zur Unterscheidung von drei verschiedenen Grundtypen des Knochengewebes. Da diese aufgrund ihres unterschiedlichen Aufbaus und Mineralisationsgrades eventuell abweichenden degradativen postmortalen Prozessen unterworfen sein können, ist die Kenntnis vom Aufbau der Gewebetypen entscheidend.

In der einfachsten Organisationsform, die als *Geflechtknochen* bezeichnet wird, liegen die mineralisierten Kollagenfasern in einem zufällig angeordneten, unstrukturierten Netzwerk vor. Das vaskuläre System versorgt den Knochen über großräumige Lakunen (Doblaré et al. 2004, Lieberman 1997, Martin et al. 1998, siehe Abb 1.7). Aufgrund der hohen Bildungsgeschwindigkeit dieses Knochentyps findet sich Geflechtknochen typischerweise dort, wo eine möglichst hohe Stabilisierung innerhalb kürzester Zeit erforderlich ist. Dieser Knochentypus stellt bei Säugetieren jedoch lediglich eine Übergangsform dar, welche nach und nach in für den Organismus günstigere Organisationsformen, plexiformen oder lamellären Knochen (siehe weiter unten), umgewandelt wird (Martin et al. 1998). Im menschlichen Skelett ist dieser Umbau spätestens im Alter von vier bis fünf Jahren abgeschlossen, wobei sich in Bereichen mit hoher mechanischer Belastung und damit hohen Umbauraten, wie den Ansatzstellen von Sehnen oder der Alveolarregion des Kiefers, Geflechtknochen auch dauerhaft findet. Tritt Geflechtknochen im adulten Skelett anderweitig auf, wird dies als pathologisch angesehen (Martin et al. 1998, Schultz 1997).

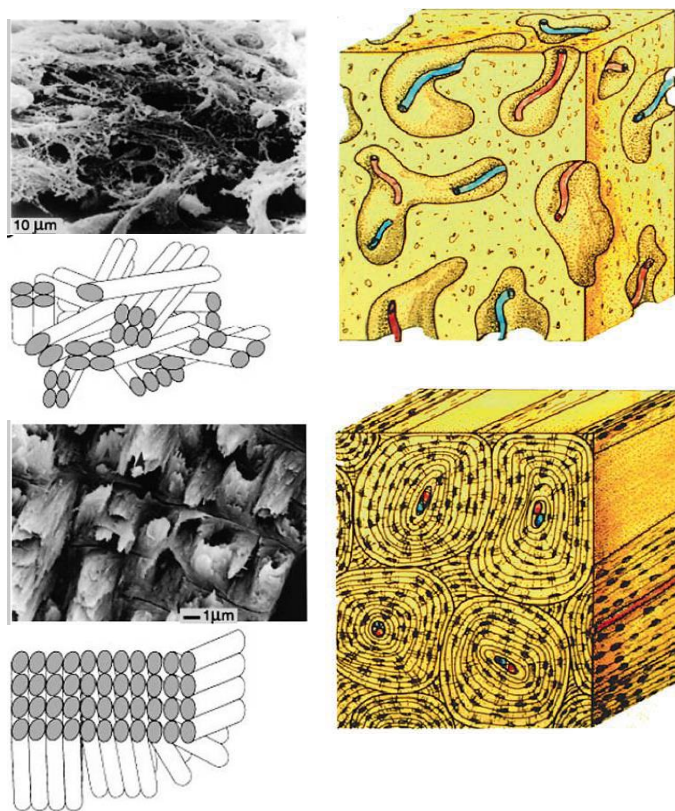


Abb. 1.7 Mikrostrukturelle Organisationsformen von Knochengewebe: Geflechtknochen (oben) und lamellärer Knochen mit osteonalen Strukturen (unten). Links dargestellt sind jeweils elektronenmikroskopische Aufnahmen der Gewebetypen sowie schematische Zeichnungen über den Verlauf der Kollagenfasern (verändert nach Beniash 2011 und Safadi et al. 2009).

Lamellärer Knochen ist die überaus stabile, ausgereifte Form adulten Knochens. Er zeichnet sich durch einen hohen Organisationsgrad parallel angeordneter Kollagenfasern aus, welche in kompaktem Knochen konzentrisch um die vaskulären Kanäle (Havers'sche Kanäle) angeordnet sind, welche Blutgefäße, Nerven und Lymphe enthalten. Diese als Osteone bezeichneten Strukturen durchziehen den Knochen in longitudinaler Richtung und spielen eine entscheidende Rolle bei der Stabilisierung des Gewebes (siehe Abb. 1.7). Aufgrund des hohen Organisationsgrades sind die Bildungsgeschwindigkeit und die Umbaurate dieses Knochentyps langsam (z.B. Safadi et al. 2009).

Der dritte mikrostrukturelle Organisationstyp kann als Intermediärform aus Geflecht- und lamellärem Knochen angesprochen werden und wird als *plexiformer Knochen* oder *fibrolamellärer Knochen* bezeichnet.

rer Komplex bezeichnet. Gekennzeichnet ist diese Form durch ein Grundgerüst aus Geflechtknochen trabekeln, deren Zwischenräume mit lamellärem Knochen ausgefüllt werden. Charakteristisch ist der palisadenartige Aufbau des Gewebes, das diesem durch die geradlinig verlaufenden vaskulären Hohlräume im Querschnitt eine ziegelmauerartige Erscheinung verleiht (Martin et al. 1998, Abb. 1.8).

Ähnlich dem Geflechtknochen ist die Bildungsgeschwindigkeit des plexiformen Strukturtyps schnell, jedoch verleihen der höhere Mineralisationsgrad und der systematisch angeordnete Aufbau dem Gewebe einen hohen Grad an Stabilität. Dies ist von entscheidender Bedeutung für große, rasch wachsende Tiere (Boviden, Cerviden, Equiden, Suiden), die in der Lage sein müssen, unmittelbar nach der Geburt aufstehen und ihr eigenes Gewicht tragen zu können, und war damit auch bei den in der vorliegenden Studie untersuchten Rehknochen zu finden. Da sekundär lamellärer Knochen günstigere biomechanische Eigenschaften besitzt, jedoch langsamer gebildet wird, finden sich, je nach Beanspruchungsgrad des jeweiligen Skelettelements, auch Mischformen zwischen plexiformem und Havers'schen Knochen bzw. einzelne Knochen oder Areale, die nur sekundär lamellären Knochen aufweisen (Lihl et al. 2013).

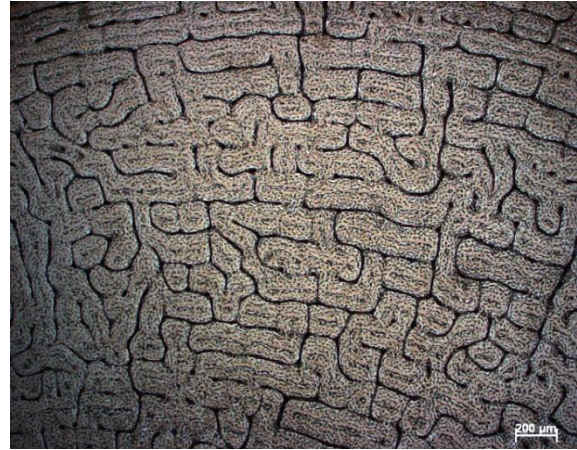


Abb. 1.8 Querschnitt vom Metatarsus eines Rehs (*Capreolus capreolus*) mit typischem, palisadenartig-plexiformem Strukturcharakter (Hellfeld, 50x).

1.3 Taphonomie

Aufgrund des hohen Proteinanteils und seiner Eigenschaften als Mineralspeicher stellt Knochengewebe nach dem Tod des Individuums eine wertvolle Ressource für eine Vielzahl von Organismen dar, welche die zur Verfügung gestellten Nährstoffe vollständig nutzen und verwerten können und somit den Knochen früher oder später komplett abbauen, wenn er nicht vorher fossilisiert, was einen dauerhaften Erhalt bewirkt (Millard 2001, siehe auch 1.3.2). Trotz der Tatsache, dass der postmortale Abbau von Knochengewebe bereits seit Jahrzehnten intensiv erforscht wird, sind die ablaufenden diagenetischen Prozesse aufgrund ihrer Komplexität noch nicht erschöpfend modelliert (Reiche et al. 2003).

Im lebenden Organismus wird die Homöostase der Struktur und Funktion von Knochengewebe durch eine Reihe von extrazellulären Signalsystemen garantiert (Cowan et al. 2012), und daher gelten auch die Knochen nach dem Tod des Individuums und dem entsprechenden Wegfall regulativer Mechanismen prinzipiell als instabil (Trueman und Tuross 2002).

Generell beginnt die autolytische Destruktion der Gewebe durch körpereigene Enzyme unmittelbar nach dem Tod des Individuums (Child 1995a, Dent 2004). Im weiteren Verlauf der Dekomposition breiten sich die als Kommensalen im Verdauungs- und Respirationstrakt natürlich vorkommenden Mikroorganismen über das vaskuläre und lymphatische System im gesamten Körper aus und zersetzen die befallenen Gewebe. Mit fortschreitender Fäulnis wird der zur Verfügung stehende Sauerstoff rasch durch aerobe Mikroorganismen verstoffwechselt, was zu einer Zunahme anaerober Bakterien führt, welche das dominierende Element während der Fäulnisphasen darstellen (Campobasso et al. 2001, Child 1995a, Dent 2004, Gill-King 1997, Vass 2001). Obwohl die Dekomposition eines toten Körpers ein kontinuierlicher Prozess ist, wird der Vorgang von zahlreichen Autoren in einzelne Phasen eingeteilt, welche jeweils durch bestimmte Merkmale charakterisiert sind (Adlam und Simmons 2007, Campobasso et al. 2001, Clark et al. 1997, Galloway 1997, Johnson 1975, Lyman 1994, Payne 1965). Demnach durchläuft ein Kadaver in der Regel folgende Zersetzungsschritte:



Die Dauer der einzelnen Phasen variiert dabei stark und hängt von zahlreichen externen Faktoren ab, welche die ablaufenden Prozesse deutlich verlangsamen oder teilweise scheinbar stoppen können (siehe 1.3.3). Hierbei ist besonders die Ausschaltung der Fäulnisprozesse entscheidend, was zu speziellen Konservierungsformen der Körper als Mumien, Moorleichen oder Fettwachsleichen¹ führt (Fiedler und Graw 2003). Bei nicht beerdigten, an der biologisch hoch aktiven Erdoberfläche liegende Kadavern ist die Skelettierung meist nach wenigen Wochen abgeschlossen (Walcher 1937, siehe 1.3.3.2). Die Weichgewebszersetzung bestatteter Körper dagegen ist im Schnitt unter für die Dekomposition günstigen Bedingungen erst nach drei bis 12 Jahren komplettiert; unter ungünstigen Voraussetzungen kann sich der Prozess jedoch auch über hunderte oder sogar tausende Jahre hinziehen (Janaway et al. 2009, Ubelaker 1997). Die Erforschung dekompositioneller Veränderungen des Hartgewebes wird nach einer komplexen Nomenklatur jeweils unterschiedlichen Zeiträumen und Ereignissen zugeordnet, die auf den Tod des Individuums folgen. Dabei werden die einzelnen Begriffe in der Literatur jedoch häufig synonym verwendet und nicht klar voneinander abgegrenzt:

Der ursprünglich aus der Paläontologie stammende und von Efremov (1940) geprägte Begriff *Taphonomie*² bezeichnet all jene dekompositionsbedingten Vorgänge, welche einen Körper vom Tod

¹ Fettwachs, auch Leichenlipid oder Adipocire (lat. adeps = Fett; franz. cire = Wachs), bezeichnet das Produkt der Verseifung (Saponifikation) des Körperfettgewebes unter feuchten, anoxischen Liegebedingungen. Die Umwandlung der Körperfette in Adipocire kann unmittelbar nach dem Tod einsetzen (Forbes et al. 2004, Yan et al. 2001), indem die Triglyceride des Körperfetts enzymatisch hydrolysiert werden. Dies führt zu einer Mischung aus ungesättigten (Palmitleinsäure, Oleinsäure, Linolensäure) und gesättigten (Myristinsäure, Palmitinsäure, Stearinsäure) Fettsäuren (Pfeiffer et al. 1998). Freie Fettsäuren verbinden sich schließlich mit aus der interstitiellen Flüssigkeit freigesetzten Ionen wie Natrium, Kalium oder Calcium und bilden so schwer lösliche Fettsäure-Salze. Durch die Aktivität von überwiegend Gram-negativen anaeroben Mikroorganismen entstehen schließlich 10-Hydroxyfettsäuren, in der Regel meist 10-Hydroxy-Stearinsäure (Forbes et al. 2004, Pfeiffer et al. 1998, Takatori 1996). Die niedrigen Durchschnittstemperaturen in Erdgräbern oder Gewässern führen zu einer Auskristallisation und Härtung der Fettsäuren, was die betroffenen Gewebe oft in ihrer ursprünglichen Form konserviert. Adipocire ist äußerst resistent gegen weitere Dekomposition und daher ein bekanntes Problem auf Friedhöfen (Fiedler und Graw 2003).

² griech. táphos = Grab

des Organismus an bis zu dessen Auffindung betreffen und damit den Übergang des Gewebes von der Biosphäre in die Lithosphäre beschreiben. Die Taphonomie stellt damit gleichsam den Oberbegriff für weitere Teilbereiche, welche den Dekompositionsprozess in einzelne Abschnitte einteilen.

Prozesse, welche nach dem Tod, aber vor der Bestattung (Verlochung bzw. Sedimentbedeckung) auf den Knochen einwirken, werden unter dem Begriff *Biostratonomie*³ (Efremov 1940) zusammengefasst. Biostratonomische Vorgänge können einen erheblichen Einfluss auf die Zersetzung des Knochens ausüben, da sie sämtliche Manipulationen umfassen, welche vor dem Begräbnis auf das Gewebe einwirken können. Dies beinhaltet zum einen biotische und abiotische Faktoren wie Tierfraß und -verdau, mechanische Zerstörung sowie die Beeinflussung durch Witterungsverhältnisse (Übersicht z.B. bei Fernández-Jalvo et al. 2002, Grupe 2007, Millard 2001), zum anderen aber auch anthropogene Artefakte. Hierzu zählen insbesondere Spuren von Schlachtung an Tierknochen in Form von Schnittmarken oder Disartikulationen (Andrews 1995, Lyman 1994), Veränderungen durch Kochen oder Verbrennen, aber auch diverse rituelle Praktiken wie Einbalsamierungen, die Entfernung bestimmter Organe sowie intentionelle Bestattungen in Särgen, Sarkophagen oder sonstigen Grabbauten (Roberts et al. 2002, Ubelaker 1997). Auf die Rolle von Vorerkrankungen auf das taphonomische Schicksal wird im Kapitel 1.3.3 eingegangen.

Abbauvorgänge, die den Knochen nach der Bestattung betreffen, werden als *Diagenese*⁴ bezeichnet (Efremov 1940) und können entweder physikochemischer oder biogener Natur sein. Sind an den allgemeinen Zersetzungs Vorgängen Pilze, Algen, Bakterien und sonstige Mikroorganismen beteiligt, wird auch von *Biodegradation* gesprochen (Child 1995a, Hueck 2001). Obwohl Pilze, insbesondere Vertreter der Gattung *Aspergillus* und *Penicillium* (Hucalak und Rogers 2009, Piepenbrink 1989, Sidrim et al. 2009), Knochengewebe effektiv abbauen können (siehe auch 1.3.2), konzentriert sich die Forschung vornehmlich auf bakterielle Knochendegradation. Aber trotz der Tatsache, dass eine große Anzahl von Bakterien sowohl aus der Kommensalenflora des Leichnams als auch aus dem Bodenmilieu in der Lage ist, Knochen zu besiedeln und zu zersetzen, herrscht keine Einigkeit darüber, welche Mikroorganismen welcher Art von Zerstörungsmuster zugeordnet werden können (Child 1995a, Hackett 1981, Marchiafava et al. 1974). Hackett (1981) fasste die in Knochenquerschnitten beobachteten mikrobiell induzierten Defekte nach ihrer Erscheinung in vier Kategorien zusammen, die als mikroskopische fokale Destruktionen (mfd) bekannt sind, deren Deutung jedoch kontrovers diskutiert wird (Abb. 1.9). So werden die erstmals von Carl Wedl im Jahr 1864 (Wedl 1864) beschriebenen und nach ihm benannten verzweigten,

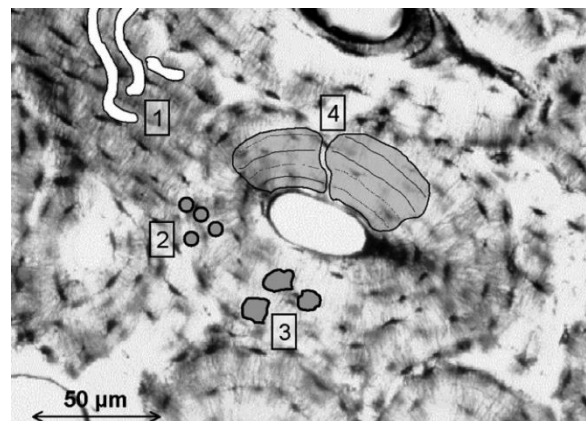


Abb. 1.9 Darstellung der von Hackett (1981) beschriebenen mikrobiellen Destruktionsmuster, die an Knochenquerschnitten beobachtet werden können (aus Jans et al. 2004): (1) Wedl-Tunnel, (2) linear-longitudinale Tunnel, (3) knospige Tunnel, (4) lamellare Tunnel.

³ auch Biostratinomie; lat. stratum = Schicht

⁴ ursprünglich im geologischen Zusammenhang: Verdichtung von Sedimenten

schlauchartigen Bohrkanäle üblicherweise der Aktivität von Pilzen und damit dem Vordringen von Hyphen in den Knochen zugeschrieben, während die übrigen Zerstörungsmuster bakteriellen Ursprungs sein sollen (Bell 1990, Bell et al. 1996, Colson und Bailey 1997, Hackett 1981, Jans et al. 2002, Trueman und Martill 2002).

Bei fortgeschrittener mikrobieller Degradation des Knochens breiten sich die Läsionen über den gesamten Querschnitt aus und die ursprüngliche mikrostrukturelle Organisation des Gewebes ist dann meist nicht mehr erkennbar – vor allem, wenn die zerstörten Areale mit exogener organischer oder anorganischer Substanz kontaminiert sind, welche hauptsächlich aus bakteriellen Abbauprodukten, Pilzkörpern und mineralischen Partikeln besteht (Garland 1989, siehe auch 1.3.2). Sichtbare mikrobielle Aktivität in Knochengewebe ist dabei nicht auf längere Liegezeiten beschränkt, sondern kann sich bereits innerhalb von Monaten oder wenigen Jahren nach dem Tod des Organismus manifestieren (Bell et al. 1996, Collins et al. 2002, Hedges 2002, Jans et al. 2004, Nielsen-Marsh et al. 2007, Yoshino et al. 1991). Generell sind die Verteilungsmuster bzw. die Intensität bakteriellen Befalls innerhalb der einzelnen Skelettelemente eines Kadavers jedoch nicht uniform, sondern variieren teilweise erheblich (Fernández-Jalvo et al. 2010). Knochen mit einem hohen Anteil an *Substantia spongiosa* und dünner Compacta wie Rippen oder Wirbel sind per se deutlich anfälliger für diagenetischen Abbau als die robusteren Langknochen (Swift et al. 2001). Hinzu kommt, dass die Knochen aus dem Thorax- bzw. Abdominalbereich während der Dekomposition des Weichgewebes in direktem Kontakt mit der bakteriellen Hauptmasse aus dem Verdauungs- und Respirationstrakt stehen, die für die Erstbesiedelung des Knochengewebes verantwortlich gemacht wird (Child 1995a, b). So weisen beispielsweise Tierknochen, welche aus Schlachtabfällen stammen und disartikuliert begraben wurden, generell einen geringeren Grad an bakteriellem Befall auf als ganzheitliche Bestattungen (Jans et al. 2004, Nielsen-Marsh 2007, Trueman und Martill 2002), da durch die Entfernung der Innereien die Initialinokulation mit körpereigenen Bakterien minimiert wurde (Child 1995b). Jedoch ist die Integrität der Knochen selbst ein entscheidender Faktor hinsichtlich der Erhaltungschancen des Gewebes, da der ungehinderte Kontakt von Wasser und Umgebungssediment mit der exponierten Markhöhle bzw. Spongiosa die Dekomposition beschleunigt (Denys 2002).

1.3.1 Dekomposition der organischen Matrix

Das im Knochen enthaltene Kollagen weist durch seine Wasserunlöslichkeit, seine ungewöhnlich hohe Gelatinisierungstemperatur und die enge Verbindung mit der mineralischen Matrix (siehe 1.2.1.3 und Collins et al. 1995) prinzipiell eine sehr hohe Resistenz gegenüber degradativen Prozessen auf und macht es damit postmortal haltbarer als andere im Körper vorkommenden Proteine (Buckley und Wadsworth 2014). Aber auch ohne die schützende Funktion der Mineralkristallite sind Kollagenmoleküle durch ihren komplexen, mehrdimensionalen Aufbau, der durch zahlreiche inter- und intramolekulare Bindungen gekennzeichnet ist, überaus resistent. Um die stabilisierenden Quervernetzungen aufzubrechen (vgl. 1.2.1.1), muss das Protein zunächst „aufgefaltet“ werden, damit das molekulare Kohlenstoff-Stickstoff-Rückgrat exponiert ist und gespalten

werden kann (Schweitzer 2004). So konnte mehrfach Kollagen in über 100.000 Jahre alten Knochen nachgewiesen werden (Jones et al. 2001), vereinzelt und unter optimalen Erhaltungsbedingungen jedoch sogar in wesentlich älteren Funden. Buckley und Collins (2011) extrahierten aus in Großbritannien gefundenem, 1,5 Millionen Jahre altem Skelettmaterial erfolgreich Kollagen, und Rybczynski et al. (2013) konnten sogar aus einem 3,5 Millionen Jahre alten, im arktischen Permafrost gelagerten Knochen Kollagen isolieren.

Generell kann Knochen auf zwei unterschiedliche Arten abgebaut werden: Zum einen ist er der Aktivität von Mikroorganismen und Pilzen unterworfen (z.B. Bell et al. 1996, Hackett 1981), zum anderen greift aber auch ein chemischer Degradationsprozess. Die chemische Degradation bezieht sich auf die hydrolytische Spaltung der Peptidbindungen und damit die Depolymerisierung des Moleküls. Die abgespaltenen Polypeptidfragmente lösen sich aus dem Molekülverband, was eine zunehmende Schwächung der Wasserstoffbrückenbindungen bewirkt und damit die Degradation mehr und mehr beschleunigt. Dieser Vorgang wird aus thermodynamischen Gründen durch höhere Temperaturen stark katalysiert (Collins et al. 1995). Auch extreme pH-Werte wirken sich negativ auf die Stabilität des Kollagens aus, da sie ein Aufquellen des Polypeptids fördern und damit einer raschen Hydrolyse Vorschub leisten (Collins et al. 2002). Fluktuationen im Wasserhaushalt des Liegemilieus, bedingt durch fließendes Wasser oder häufige Änderungen des Grundwasserspiegels, bewirken eine Ausschwemmung der hydrolytisch gespaltenen Polypeptidfragmente aus dem Knochen und so einen rapiden Verlust des Kollagens. Dieser Vorgang wird auch als Auslaugung bezeichnet (Collins et al. 1995, Hare 1980).

Doch nicht nur das Polypeptid ist von chemischen Abbaureaktionen betroffen, auch die einzelnen Aminosäuren können auf nicht-enzymatischem Weg stark modifiziert werden. Diese Reaktionen werden teilweise durch die in der Knochenmatrix vorkommenden Metallionen katalysiert. Durch den kontinuierlichen hydrolytischen Abbau des Proteins dürften die Aminosäuren, welche die stabilsten Peptidbindungen eingehen, am längsten Bestand haben (Dungworth et al. 1975). Auch der Grad der Quervernetzung der Polypeptidketten hat einen entscheidenden Einfluss auf die Resistenz gegen chemische Degradation. Ist diese durch pathologische Prozesse gestört, depolymerisiert das Protein *postmortem* leichter und kann damit schneller abgebaut werden (Safadi et al. 2009).

Entscheidend bei der chemischen Degradation des Knochens ist, dass die Mikrostruktur im histologischen Bild bei Hellfeldbetrachtung oft vollkommen intakt erscheint, da hydrolytische Abbauprozesse ohne die Beteiligung von Mikroorganismen ablaufen können (Child 1995b, Smith et al. 2007, Trueman und Martill 2002). Mikrobieller und mykotischer Abbau von Kollagen geht in der Regel rascher vonstatten als chemische Degradationsprozesse (Berna et al. 2004, Buckley und Wadsworth 2014, Collins et al. 1995, 2002, Nielsen-Marsh et al. 2000), da das stickstoffreiche Substrat einen wertvollen Energieträger für zahlreiche saprobiontische Organismen darstellt. Zahlreiche Bakterienspezies sind dank hoch spezialisierter Kollagenasen in der Lage, Kollagen enzymatisch zu verdauen (Turban-Just 1997), was zu einer zunehmenden Gelatinisierung des Proteins und einer Zunahme an freien Aminosäuren führt, welche dann aus dem Knochen ausdiffundieren (Collins et al. 1995). Bei intakter Kollagen-Mineralstruktur ist das Protein zunächst theoretisch

bis zu einem gewissen Grad vor bakteriellem Abbau geschützt, da die Lücken zwischen den Mineralkristalliten zu klein für die Passage von komplexen Enzymen wie Kollagenasen sind (siehe 1.2.1.3). Jedoch sind Mikroorganismen in der Lage, das Mineral mithilfe organischer Säuren anzu-lösen und somit das Kollagen zugänglich für ihre Enzyme zu machen (Duff et al. 1963, Turner-Walker und Syversen 2002). Mikrobielle Kollagenasen erkennen dabei spezifische Aminosäuresequenzen, an denen sie das Polypeptid spalten. Diese Sequenzen scheinen für alle bakteriellen Kollagenasetypen identisch zu sein (Berry und Shuttleworth 1988, Bond und van Wart 1984, Endo et al. 1987). Nach dem initialen hydrolytischen Anverbau des Proteins durch Kollagenasen sind die verbliebenen Moleküle für jede andere Protease angreifbar und können so rasch zerstört werden. Es wurde diskutiert, dass Aminosäuren mit einer hohen Anzahl von Kohlenstoffatomen bevorzugt abgebaut werden und zuerst verloren gehen, da diese den höchsten Nettoenergiegewinn für Mikroorganismen liefern sollen (Grupe und Turban-Just 1998, Tuross 2002).

Die aus degradierten Knochen gewonnenen Daten weichen daher potenziell von der *in vivo* erworbenen Isotopensignatur ab und bedürfen vor interpretativen Ansätzen der Validierung (siehe 1.5).

1.3.2 Diagenese des Knochenminerals

Die anorganische Knochenfraktion überdauert zwar in der Regel postmortal länger als die biomolekularen Komponenten, jedoch ist auch die mineralische Matrix keinesfalls immun gegen diagenetische Prozesse. Aufgrund der plättchenförmigen Morphologie, der geringen Größe und der hohen Anzahl an Fremdionen im Kristallgitter des Knochenminerals (vgl. 1.2.1.2) gilt dieses, da die Konstellation nicht dem kristallographischen Idealzustand entspricht, als thermodynamisch metastabil und wird *in vivo* durch eine Anzahl regulativer Einflüsse wie der engen Verbindung mit dem Kollagen oder diversen Kristallwachstumsinhibitoren stabil gehalten. Fallen die regulativen Mechanismen nach dem Tod weg, nehmen die Kristallite zwangsläufig die nach kristallographischen Aspekten stabilste Form ein (Lee-Thorp 2002, Trueman 2013) und erhöhen damit zugleich ihre Resistenz gegen weitere degradative Veränderungen (Lee-Thorp 2002). Das Bodenmilieu ist ein offenes System und im Hinblick auf die Verteilung und Konzentration von Ionen grundlegend anders zusammengesetzt als Knochengewebe (Turner-Walker 2008), weshalb diagenetische Veränderungen des Minerals unausweichlich sind. Zahlreiche Studien belegen, dass sich deutliche mineralogische Modifikationen, besonders eine spontane Vergrößerung der Kristalle im Zuge der Ostwald-Reifung⁵ mit zunehmender Kristallinität⁶ (Lebon et al. 2008), bereits innerhalb der ersten 10 Jahre nach dem Tod manifestieren (Person et al. 1995, Shinomiya et al. 1998, Trueman et al. 2008, Tuross et al. 1989a, b, Wright und Schwarcz 1996). Zazzo et al. (2004a) beschreiben so-

⁵ Als Ostwald-Reifung, in diesem Zusammenhang auch Kristallreifung, wird die Vergrößerung einer Substanz aus ursprünglich kleineren Partikeln bezeichnet (Ratke und Voorhees 2002)

⁶ Struktureller Ordnungsgrad eines Kristalls

gar Veränderungen innerhalb weniger Tage nach dem Begräbnis. Oft wird die beobachtete Zunahme der Kristallinität mit dem gleichzeitigen Verlust der organischen Phase korreliert, da durch den Wegfall der Kollagenfibrillen die reaktive Oberfläche der Mineralkristallite exponiert und äußeren Einflüssen ausgesetzt ist (Nielsen-Marsh und Hedges 1999, Person et al. 1995, Sillen und Parkinson 1996, Tuross et al. 1989b).

Die Vergrößerung der Kristalle ist jedoch nicht die einzige postmortale Modifikation, die auf die mineralische Komponente des Knochens einwirken kann. Diagenetische Prozesse des Bioapatits sind weiterhin geprägt von An- bzw. Auflösung der instabilen Phasen des Minerals, Ausfällungsreaktionen und Rekristallisationen, Präzipitation von exogenen Mineralphasen in Hohlräumen und Rissen sowie selektivem Ionenaustausch zwischen dem Bodenmilieu und den Calciumphosphat-Gitterpositionen durch Adsorption und Diffusion (Hedges und Millard 1995, Person et al. 1995, Trueman 2013, Wright und Schwarcz 1996, Zazzo et al. 2004b). Dabei sind diese Prozesse keineswegs nur für älteres Probenmaterial beschrieben. Dauphin et al. (1994) und Fernández-Jalvo (1998) konnten beispielsweise in Knochen aus rezenten Bestattungen eine stärkere Inkorporierung von Spurenelementen aus dem Boden feststellen als in Knochen mit längeren Liegezeiten. Dennoch liegt der Schwerpunkt der Erforschung von dekompositionellen Veränderungen des Knochenminerals hauptsächlich auf der Charakterisierung von subfossilem oder fossilem Material, während das diagenetische Schicksal der mineralischen Knochenfraktion in den ersten Jahren oder Jahrzehnten nach dem Tod weit weniger intensiv untersucht ist.

1.3.2.1 Auflösung des Minerals und Rekristallisationsphänomene

Aufgrund seines hohen Carbonatgehalts, welcher *in vivo* die Löslichkeit des Knochenminerals im Zuge physiologischer Prozesse garantiert (siehe 1.2.1.2), ist der Bioapatit des Knochens auch postmortal bei sauren pH-Werten durch Auflösung gefährdet. Dabei werden die Ionen, aus denen die Kristallite zusammengesetzt sind, unter Abspaltung von Wasser und CO_2 in Lösung gebracht. Sinkt der pH-Wert erneut ab, rekristallisieren die freien Ionen unter bestimmten Bedingungen zu thermodynamisch stabileren Aggregaten. Dabei können bei der Bildung neuer Kristalle auch Ionen aus dem Umgebungsmilieu mit einbezogen werden, was zu einer Kontamination des Knochens und Entstehung neuer Mineralphasen führt (Zazzo 2014, siehe auch 1.3.2.2 und 1.3.2.3). Auf diese Weise kann die Integrität des Knochens durch Struktursprengung teils erheblich kompromittiert werden (Herrmann und Newesely 1982). Ein Beispiel hierfür ist die Bildung von Brushit, auch unter dem Begriff Dicalciumphosphat-Dihydrat (DCPD) mit der Summenformel $\text{CaHPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ bekannt, welches infolge von saurer Anlösung des Bioapatits entsteht (Hirsch et al. 2014, Abb. 1.10). Brushitkristalle sind deutlich größer als die des ursprünglichen Knochenminerals, was zu Rissen in der Knochenstruktur sowie kristallinen Ausblühungen an der Knochenoberfläche führt (Newesely 1989, Piepenbrink 1989, Abb. 1.10). Jedoch ist Brushit aufgrund seiner hohen Löslichkeit sehr fragil und kann nur unter bestimmten Liegebedingungen wie bei Bestattungen in Steinsarkophagen beobachtet werden, da er sich im Boden rasch auflöst (Turner-Walker 2008). Die

lokale Entstehung eines sauren Umgebungsmilieus, welches einen korrosiven Effekt auf das Knochenmineral ausübt, wird nicht nur durch die während der fortgeschrittenen Verwesung des Leichnams auftretenden Nebenprodukte begünstigt (Gill-King 1997, Towne 2000), wobei hier in der Regel die Knochen im Abdominal- und Thorakalbereich am stärksten von demineralisierenden Effekten betroffen sind (Child 1995a). Auch biogene Faktoren spielen eine Rolle. So lösen die den Knochen besiedelnden Bakterien die mineralische Komponente teilweise gezielt auf, um Zugang zu den als Energieträger verwerteten Kollagenfibrillen zu gewinnen, weshalb die bakteriellen Bohrkanäle mit von Rekristallisation geprägten hypermineralisierten Bereichen umgeben sind. Aber auch die lytische Zersetzung der mikrobiellen Zellkörper im Knochen sowie das Vordringen von Kapillarwurzeln von Pflanzen schaffen eine lokale Ansäuerung des Milieus (Child 1995a, Gruppe et al. 1993). Eine große Anzahl an Mikroorganismen, beispielsweise Vertreter der Gattungen *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Micrococcus*, *Flavobacterium*, *Mucor*, *Penicillium* und *Aspergillus*, ist ferner in der Lage, gezielt anorganische Phosphorverbindungen zu zersetzen und zu verwerten (Higgins und Burns 1975). Ist das Liegemilieu zudem noch sehr durchlässig (sandig) und erlaubt einen kontinuierlichen Wasserdurchfluss, kann der gesamte Knochen innerhalb kurzer Zeiträume vollständig aufgelöst sein. Zurück bleibt nur noch seine sich gegen den Boden abhebende Silhouette, die auch als Leichenschatten bezeichnet wird (Dent 2004, Bethell und Carver 1987, Bethell und Smith 1989).

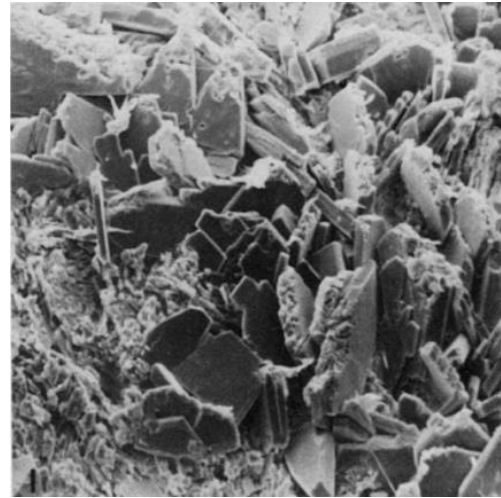


Abb. 1.10 Os occipitale aus einer Sarkophagbestattung mit oberflächlichen Ausblühungen von Brushit-Kristallen, welche deutlich größer sind als die des ursprünglichen Knochenminerals (aus Piepenbrink 1989).

1.3.2.2 Einwanderung von Fremdionen

Der Bioapatit des Knochens kann aufgrund seiner chemischen Eigenschaften eine Vielzahl von Elementen des Periodensystems in sein Kristallgitter integrieren (siehe 1.2.1.2) – nicht nur *in vivo*, sondern besonders auch *postmortem*, wenn die regulativen Mechanismen des Körpers wegfallen (Hughes und Rakovan 2002, Pan und Fleet 2002, Piccoli und Candela 2002). Eine besondere Rolle kommt hierbei dem Grundwasser zu, welches einerseits in großem Stil gelöste Ionen in den Knochen eintragen (Trueman et al. 2003) und andererseits aus dem Gewebe gelöste Ionen ausschwemmen kann, wodurch die Porosität des Knochens und damit seine Angreifbarkeit sukzessive erhöht werden (Hedges und Millard 1995). Starke Fluktuationen des Grundwasserspiegels potenzieren diesen Effekt durch den Aufbau eines hydraulischen Moments. Neben gelöstem Carbonat in Form von HCO_3^- oder CaCO_3 -Partikeln, welche an die Oberfläche der Knochenkristallite binden oder aber in das Kristallgitter inkorporiert werden können (Krueger 1991, Lee-Thorp und van der Merwe 1991), werden auch, je nach Zusammensetzung des Bodens, zahlreiche andere

Ionen wie Mn^{2+} , Cu^{2+} , Ba^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Si^{2+} , Al^{2+} , Fe^{2+} , Sr^{2+} , Na^+ , K^+ , F^- , Cl^- , SO_4^{2-} im Zuge der Diagenese in den Knochen aufgenommen (Person et al. 1995). Dies betrifft jedoch nicht nur die oberflächlichen Regionen, sondern die exogenen Ionen können durch Diffusion den gesamten Knochenquerschnitt kontaminieren (Elliott und Grime 1993, Reiche et al. 2003). Häufig beschrieben ist jedoch ein U-förmiges Diffusionsmuster eingewanderter exogener Ionen entlang des Knochenquerschnitts, wobei die physiologischen Kanäle innerhalb des Gewebes nur wenig Einfluss auf deren Verbreitung haben (Badone und Farquhar 1982, Millard und Hedges 1995, Trueman und Tuross 2002). Grupe und Piepenbrink (1989) fanden heraus, dass diverse Metallionen aus dem Umgebungsmilieu durch die Aktivität von Pilzen tief in den Knochen eingetragen werden können. Jedoch sind auch die Kapillarwurzeln von Pflanzen in der Lage, bis in die dichten kortikalen Schichten des Knochens vorzudringen und zum einen Spurenelemente aus dem Bodenmilieu einzutragen, zum anderen Phosphat aus dem Gewebe herauszulösen (Ascenzi und Silvestrini 1984, Bell et al. 1996, Hackett 1981, Marchiafava et al. 1974).

Inkorporierungen von Fremdionen in den Kristall haben profunde Auswirkungen auf dessen Raumordnung und Kristallinität. Sind die Substitutionen nicht-stöchiometrisch, führt dies zu teils erheblichen Verzerrungen des Kristallgitters (Baig et al. 1999, Handshin und Stern 1995). Zur Stabilisierung des Kristalls werden im Zuge des zwingend notwendigen Ladungsausgleichs weitere physiologisch im Kristall gebundene Ionen ausgetauscht, was zu einem zunehmenden Verlust der ursprünglichen Zusammensetzung des Minerals führt und den Knochen somit in seltenen Fällen sukzessive fossilisieren lässt, bis schließlich nur noch ein Pseudomorph des ursprünglichen Gewebes erhalten ist (Kolodny et al. 1996).

Verschließen sich die interkristallinen Porositäten im Laufe der Diagenese, werden die inkorporierten oder adsorbierten Fremdionen innerhalb des Knochens fixiert und bilden so ein taphonomisches Archiv für die früheren Diagenesephasen (Trueman und Tuross 2002).

1.3.2.3 Kontamination mit exogenen Mineralphasen

Nicht nur die Einwanderung einzelner Ionen kann durch die Veränderung der chemischen Zusammensetzung des Knochenminerals die biogene Signatur des Gewebes negativ beeinflussen, auch kann deren Inkorporierung ganze Aggregate fremder Mineralphasen entstehen lassen und so den Knochen massiv kontaminieren. Dabei findet meist eine Permineralisierung statt, wobei vaskuläre Hohlräume und Mikrorisse sukzessive mit authigenen⁷ Mineralen gefüllt werden. Abhängig vom pH-Wert des Umgebungsmilieus und der jeweiligen Bodenchemie handelt es sich dabei meist um andere Apatite wie Frankolit ($\text{Ca}_5[\text{PO}_4, \text{CO}_3]_3\text{F}$), Carbonate (CaCO_3 , FeCO_3 , BaCO_3), Sulfide (FeS , ZnS), Sulfate (BaSO_4 , CaSO_4) Quarz (SiO_2), Tonminerale sowie Mangan- oder Eisenoxide wie Vivianit ($\text{Fe}_3[\text{PO}_4]_2 8\text{H}_2\text{O}$) (Child 1995b, Reiche et al. 1999, 2000, Trueman und Tuross 2002, Wings 2004). Die in den physiologischen Hohlräumen des Knochens wachsenden Minerale

⁷ Der aus der Geologie stammende Begriff „authigen“ (griech. *authigenés* = einheimisch) bezeichnet die Bildung eines Minerals innerhalb eines oder auf einem Wirtsgestein.

deuten eher auf alkalische Liegebedingungen hin (Wings 2004), während die Entstehung authigener Phosphataggregate unter anoxischen und sauren Bedingungen stattfindet (Briggs und Kear 1993). So sind Calciumcarbonat-Ablagerungen aufgrund ihrer Empfindlichkeit gegen saures Milieu unter anorganischen Bedingungen erst ab einem pH-Wert von 8 oder darüber beobachtbar (Ehrlich 2002, Knorre und Krumbein 2000).

Die Bildung diagenetischer Fremdmineralphasen in Knochen ist dabei nicht auf fossilen Knochen beschränkt, sondern kann bereits nach wesentlich kürzeren Liegezeiten beobachtet werden (McGowan und Prangnell 2006, Molleson et al. 1998).

Mineralische Verunreinigungen können jedoch nicht nur durch chemische Diffusion, sondern auch mechanisch in den Knochen eingetragen werden (Swift et al. 2001), vornehmlich in dem hier nicht näher untersuchten aquatischen Kontext oder bei Liegebedingungen mit hoher Wasserfluktuation, wobei es sich hierbei meist um feine Sandpartikel (Quartz, SiO₂) handelt (vgl. Abb. 1.11).

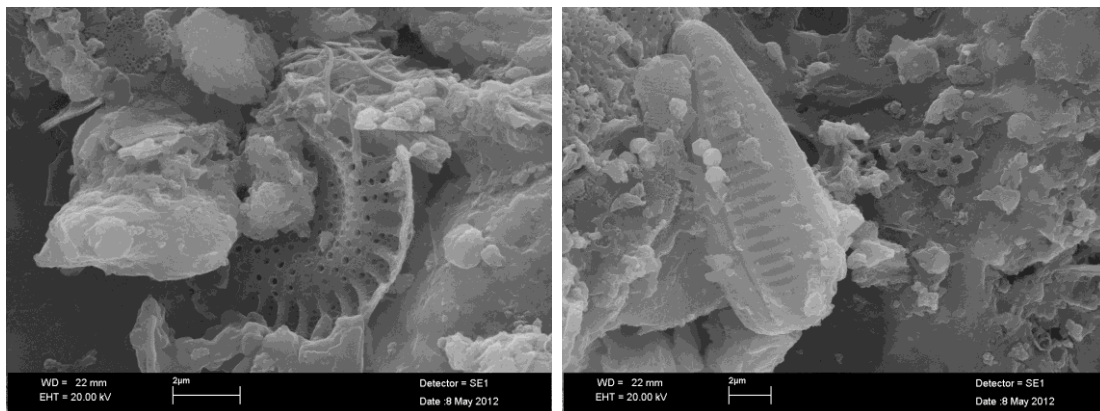


Abb. 1.11 Beispiel für extreme Aggregatkontamination: REM-Aufnahme der Silikatskelette von Kieselalgen, welche innerhalb der Diploe eines Schädels eingewachsen waren. Der etwa 2000 Jahre alte Schädel wurde aus dem Fluss Eider (Schleswig-Holstein) geborgen (für Details siehe Harbeck 2007) (Foto: K. Macknapp, Deutsches Museum München).

1.3.3 Einfluss intrinsischer und extrinsischer Faktoren auf dekompositionelle Prozesse des Gewebes

Die Kenntnis über die Auswirkungen der Korrelation zwischen dem Liegemilieu, dem Grabkontext, mit der Bestattung assoziierten Artefakten sowie allen Parametern, die durch direkte oder indirekte Interaktion mit dem Kadaver einen Einfluss auf den Verlauf der Dekomposition ausüben, ist unabdingbar für das Verständnis diagenetischer Prozesse und der Möglichkeit der Extrapolation von Erkenntnissen auf vergangene Zeiträume (Fernández-Jalvo et al. 2010).

Generell können der Ablauf und die Geschwindigkeit der Dekomposition eines toten Körpers durch verschiedene Variablen beeinflusst werden, welche zum einen den Leichnam selbst betreffen (intrinsische Faktoren), zum anderen das Umgebungsmilieu (extrinsische Faktoren). Zu den *intrinsischen Faktoren* zählen das Sterbealter, die jeweilige Konstitution des Individuums zum Zeitpunkt des Todes, die Todesursache sowie die Unversehrtheit des Körpers (Campobasso et al.

2001). So sind beispielsweise die Knochen subadulter Individuen aufgrund ihres geringeren Mineralisierungsgrades und der geringeren Dichte eher durch Degradation und Kontamination gefährdet als die von Erwachsenen (Zapata et al. 2006). Traumata beschleunigen die Dekomposition ebenso wie kachektische⁸ Zustände, aber auch stark adipöse Leichname degradieren in der Regel aufgrund ihres hohen Wassergehaltes schneller als die normalgewichtiger Individuen, sofern keine Fettwachsbildung stattfindet (Pinheiro 2006).

Die *extrinsischen Faktoren*, welche auf die Dekompositionsrate einwirken können, sind vielfältig und oft nicht in ihrer Gesamtheit zu erfassen. Neben der Art und dem Vorhandensein von Kleidung spielt auch die Bestattungsweise selbst eine tragende Rolle, ebenso wie die Umgebungstemperatur, die Luftzirkulation sowie die relative Feuchtigkeit, die Niederschlagsmenge und weitere generelle Umweltfaktoren (Mann et al. 1990, Collins et al. 1995, Gernaey et al. 2001, Hedges und Millard 1995, Nielsen-Marsh und Hedges 2000a, Reiche et al. 2003). Kleidung wirkt unmittelbar nach dem Tod beschleunigend auf den Dekompositionsprozess, da sie das Auskühlen des Körpers (*Algor mortis*) verlangsamt und so zu einem rascheren Einsetzen der Fäulnisphase führt (Campobasso et al. 2001). Im späteren Verlauf der Degradation verzögert die Bekleidung die Dekomposition jedoch. Neben der mechanischen Abschirmung vor der Einwirkung von Meso- und Mikroorganismen aus dem Bestattungsmilieu bedingen Kleidungsgegenstände die Rückhaltung von Feuchtigkeit am Körper, was die Bildung von degradationsresistentem Fettwachs begünstigt (Mant 1987). Ein weiterer wichtiger Faktor ist die Art der Bestattung. In Särgen bestattete Leichname zeigen einen anderen initialen Dekompositionsverlauf als solche, die ohne Sarg direkt in der Erde begraben wurden. Die längere Verfügbarkeit von Sauerstoff und damit eine verlängerte Phase der aeroben bakteriellen Degradation sowie die bessere Drainage von Flüssigkeiten beschleunigen die Diagenese von Sargbestattungen im Vergleich zu reinen Erdgräbern (Dent 2004). Vollkommen anders verläuft dagegen die Dekomposition von Kadavern, die keiner Bestattung zugeführt werden, sondern an der Erdoberfläche verbleiben (siehe 1.3.3.2). Die Umgebungstemperatur ist ein weiteres Schlüsselement der Diagenese. Nach der Regel von van t'Hoff (RGT-Regel) laufen chemische und auch biologische Prozesse bei einer Erhöhung der Temperatur um 10°C mit der doppelten Geschwindigkeit ab. Dies gilt auch für die Aktivität von Bakterien (Carter und Tibbett 2006). Folglich ist die Dekompositionsrate bei kühlen Umgebungstemperaturen, wie sie beispielsweise in Erdgräbern vorherrschen, verlangsamt. Rodriguez und Bass (1985) erkannten einen Zusammenhang zwischen der Tiefe der Bestattung und der Dekompositionsgeschwindigkeit (Mant 1987, Jarvis 1997). Doch auch kühlere Klimazonen sind nicht automatisch ein Garant für einen dauerhaften Erhalt von Knochenmaterial. Alternierende Zyklen von Feuchtigkeitseintrag und Austrocknung führen in Kombination mit bakterieller Aktivität sehr schnell zu einer vollständigen Zerstörung von Skelettresten (Jackes et al. 2001), denn die Hydrologie des Bodens ist ein weiterer entscheidender Faktor, welcher sich massiv auf die Diagenese der Gewebe toter Körper auswirkt (Gill-King 1997, Mann et al. 1990, Vass et al. 1992; für mehr Details siehe 1.3.3.1). Von Bedeutung ist auch die Konzentration im Boden vorkommender organischer Verbindungen,

⁸ Kachexie (griech. kakos = schlecht, hexis = Zustand) bezeichnet eine krankhafte starke Abmagerung als Folge chronischer Krankheiten, Unterernährung oder Resorptionsstörungen des Verdauungstraktes (Kasper und Burghardt 2009).

die unter dem Oberbegriff der Huminstoffe zusammengefasst werden. Huminstoffe sind ein dunkel gefärbtes, hochmolekulares und uneinheitliches Stoffgemisch aus den Abbauprodukten abgestorbener organischer Substanz und bestehen zum Großteil aus aromatischen bzw. alizyklischen Ringverbindungen, können aber auch aus Carbonyl- und Carboxylgruppen sowie Alkylketten aufgebaut sein (Sutton und Sposito 2005). Huminstoffe, die entweder aus dem Bodenmilieu oder aus der *in situ* Humidifizierung organischer Bestandteile des Knochens stammen (Collins et al. 1992), können bereits nach sehr kurzen Liegezeiten in das Knochengewebe eindringen und dort über Maillard-Reaktionen schwer lösliche kolloidale Melanoidin-Verbindungen mit den Kollagenmolekülen eingehen (Collins et al. 1992, van Klinken und Hedges 1995). Auf diese Weise imprägnierte Proteinkomplexe sind effektiv sowohl vor chemischer als auch bakterieller Degradation geschützt, da die so entstandenen Kolloide schwer löslich und aus Gründen der sterischen Hinderung kaum zugänglich für bakterielle Kollagenasen sind (van Klinken und Hedges 1995, Zhang et al. 2000). Problematisch dabei ist, dass Huminstoffe aufgrund ihrer inhomogenen Zusammensetzung dadurch einen unkalkulierbaren Anteil an Fremdstickstoff, -kohlenstoff und auch -schwefel mit unbekannter isotopischer Zusammensetzung in den Knochen einbringen können (van Klinken und Hedges 1995).

1.3.3.1 Dekomposition bei Erdbestattung

Es gilt inzwischen als allgemein akzeptiert, dass nicht primär die Liegezeit der ausschlaggebende Faktor für das Dekompositionsverhalten von Skelettmaterial ist, sondern vielmehr, in Kombination mit den oben genannten Faktoren, insbesondere das Bestattungsmilieu die entscheidende Grundlage für die Erhaltung oder vollständige Degradation toter Körper bildet. Dabei können gravierende Unterschiede in der Bodenbeschaffenheit wie der jeweiligen Zusammensetzung des Substrats, der Textur, Struktur und den daraus resultierenden hydrologischen Eigenschaften des Bodens auch sehr kleinräumig auftreten und innerhalb eines Gräberfeldes stark variieren, weshalb der Erhaltungszustand der auf ein und demselben Friedhof bestatteten Individuen sehr unterschiedlich ausfallen kann.

Generell ist zu bemerken, dass sich das Substrat auf stark frequentierten Friedhöfen von dem sporadisch genutzter Bestattungsplätze oder einzelner Gräber prinzipiell durch eine höhere Bioaktivität unterscheidet, da sich mit der Zeit dort die Bodenbakterien anreichern und somit zu einer höheren mikrobiellen Grundlast im Sediment führen (Janaway 1996). Tote Körper schaffen zunächst durch ihre initiale Dekomposition unabhängig von der Bodenbeschaffenheit selbst ein alkalisches Umgebungsmilieu, da durch die frühe aerobe Zersetzung des Weichgewebes große Mengen Ammoniak freigesetzt werden (Carter et al. 2007, Hopkins et al. 2000, Rodriguez und Bass 1985). Mit zunehmender Aktivität anaerober Mikroorganismen sinkt der pH-Wert drastisch ab, da durch den Abbau von Proteinen im Zuge der Fäulnis organische Säuren wie Propionsäure und Milchsäure sowie diverse gasförmige Substanzen (Thiole, Mercaptane, Schwefelwasserstoff) entstehen, welche zur Ansäuerung des Milieus im Bereich der Bestattung führen (Child 1995b, Dent 2004, Gill-King 1997, Towne 2000). Dichte Böden mit hohem Tonanteil verhindern ein

schnelles Aussickern der sauren Dekompositionsprodukte, welche somit länger auf die Knochen einwirken und diese korrodieren können. Zudem fördern undurchlässige Böden durch die behinderte Fluktuation von Feuchtigkeit die Bildung von Fettwachs. Grobkörniger, sandiger Boden mit niedrigem Feuchtigkeitsgehalt und fehlender Wasserfluktuation dagegen bewirkt die Austrocknung des Gewebes (Fiedler und Graw 2003, Santarsiero et al. 2000), was sich positiv auf die Erhaltung von Knochen auswirkt, da auf diese Weise die Aktivität von Bakterien reduziert und hydrolytische Enzyme inhibiert werden (Skujins und McLaren 1967). Äußerst nachteilig für die Konservierung von Knochen ist jedoch, wenn sandiger, durchlässiger Boden starke hydrologische Schwankungen aufweist, denn so kann ein ungehinderter Transport von Wasser und Gasen stattfinden, was den Knochen einerseits sehr schnell auslaugt und andererseits den Eintrag von Fremdstoffen in das Gewebe bewirkt (Collins et al. 1995, Janaway 1996, Reiche et al. 2003). Besonders negativ wirkt sich ein sich zyklisch abwechselndes Befeuchten und Dehydrieren des Bodens aus. Trocknet das Sediment um die Bestattung aus, wird den Knochen mit Ca^{2+} - und PO_4^{3-} -Ionen gesättigtes Wasser entlang des osmotischen Gradienten entzogen. Durch schwere Regenfälle oder ansteigendes Grundwasser saugt sich das Gewebe wieder mit Wasser voll, das wiederum in Bezug auf Ca^{2+} - und PO_4^{3-} -Ionen abgereichert ist (Hedges und Millard 1995). Durch diesen Kreislauf verliert ein Knochen nach und nach immer mehr Ionen, die Porosität nimmt zu, und somit wird die positive Rückkopplung des Systems weiter potenziert (Turner-Walker 2008). Nielsen-Marsh et al. (2007) fassen in ihrer Studie die Bodentypen, welche sich negativ auf den Knochenerhalt auswirken, der medizinischen Nomenklatur folgend unter dem Begriff *benigne Sedimente* zusammen. Positiv für eine dauerhafte Konservierung von Skelettresten sind neutrale bis leicht alkalische, nicht zu durchlässige Böden mit konstantem Wasserhaushalt (Jackes et al. 2001).

1.3.3.2 Dekomposition von oberflächlich deponierten Kadavern

Die Dekomposition toter Körper, welche an der Erdoberfläche verbleiben und nicht bestattet werden, unterscheidet sich in zahlreichen Punkten von dem Diageneseverlauf beerdigter Individuen (Trueman und Martill 2002). Aufgrund der besonderen Relevanz dieser Tatsache in Hinblick auf forensische Fälle wurde und wird die Dekomposition ohne Bestattung intensiv erforscht, wobei besonders die an der im Jahr 1971 von William M. Bass in Tennessee, USA, gegründeten „Body Farm“⁹ durchgeführten Studien an den Leichen menschlicher Körperspender wichtige Erkenntnisse hinsichtlich der auf die Degradation von Kadavern einwirkenden Faktoren gewonnen werden konnten (Bass 1997).

Generell verläuft die Dekomposition beerdigter Körper wesentlich langsamer als an der Erdoberfläche (Rodriguez 1997). Die in der Rechtsmedizin seit der Mitte des 19. Jahrhunderts als grobe Richtlinie angewandte Casper'sche Regel besagt, dass der Grad der Verwesung einer Leiche, welche eine Woche an der Erdoberfläche lag, dem Zustand nach zwei Wochen im Wasser und acht Wochen in einem Erdgrab entspricht (z.B. Ahne et al. 2011). Dieser Umstand ist auf verschiedene Schlüsselfaktoren zurückzuführen:

⁹ University of Tennessee Anthropological Research Facility

Bestattungen in der Erde sind vor der Sonneneinstrahlung geschützt, was in tieferen Durchschnittstemperaturen als an der Oberfläche resultiert. Nach den Gesetzen der Thermodynamik verlaufen mikrobielle Aktivitäten somit unter der Erde wesentlich langsamer. Hinzu kommt, dass im Begräbnismilieu bereits nach sehr kurzer Zeit anaerobe Verhältnisse entstehen, während der Großteil der oberflächlichen Dekomposition aerob abläuft (Dent 2004, Forbes 2008). Bakterielle Abbauprozesse unter Beteiligung von Sauerstoff wirken schneller und effektiver als anaerobe Degradationsmechanismen (Child 1995b).

Die fortgeschrittene Verwesung, welche sich an die Fäulnis anschließt, setzt bei einer Sommer-temperatur von 20°C durchschnittlich nach etwa 20 Tagen ein. In kühleren Regionen dagegen, wenn die Umgebungstemperatur lediglich 2°C beträgt, dauert es etwa 200 Tage, bis das Stadium der fortgeschrittenen Verwesung erreicht wird (Carter und Tibbett 2008). Neben der Temperatur spielen noch weitere Faktoren eine entscheidende Rolle bei der schnelleren Dekomposition von

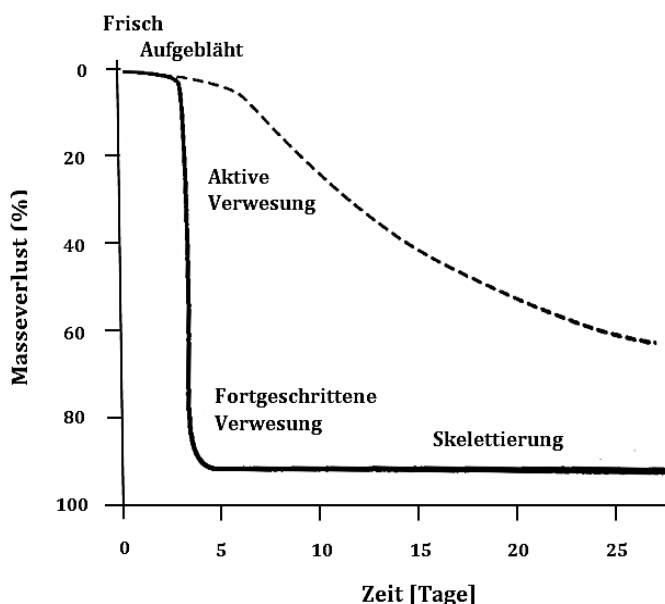


Abb. 1.12 Sigmoidaler Dekompositionsverlauf bei oberflächlich deponierten Kadavern (durchgezogene Linie). Bereits wenige Tage nach dem Tod, besonders während der aktiven Verwesung, ist der Masseverlust des Körpers maximal (der Beginn der fortgeschrittenen Verwesung ist durch die Abwanderung der Maden gekennzeichnet). Die gestrichelte Linie zeigt vergleichend den Masseverlust bei beerdigten Kadavern (nach Carter und Tibbett 2008).

oberflächlich deponierten Kadavern. So ist bei beerdigten Leichen die Besiedlung mit Insekten und die Aktivität von Aasfressern nur von untergeordneter Bedeutung, während hauptsächlich Insektenfraß maßgeblich für den rapiden Masseverlust von frei zugänglichen Körpern verantwortlich ist (Rodriguez 1997, Turner und Wiltshire 1999; siehe Abb. 1.12). Fliegen können innerhalb von Sekunden nach dem Tod den Kadaver erreichen und ihre Eier ablegen (Mann et al. 1990), wobei Schmeißfliegen (*Calliphoridae*) und Fleischfliegen (*Sarcophagidae*) die dominierenden Vertreter der ersten, frühen Stufen der Kadaverdekomposition sind (Carter und Tibbett 2008). Dabei produziert die Dichte der auftretenden Madenpopulation enorme Wärme, was wiederum die

Aktivität von Mikroorganismen beschleunigt (Fiderer 2011, Haskell et al. 1997).

Der Einfluss nekrophager Säugetiere und Vögel kann ebenfalls einen erheblichen Einfluss auf die Dekompositionsrate nicht beerdigter sterblicher Überreste haben. So können Aasfresser einen Kadaver von der Größe eines Menschen in terrestrischen Ökosystemen zu 35-75 % konsumieren (DeVault et al. 2003), bei geringer mikrobieller Aktivität und begrenztem Insektenbefall, wie es beispielsweise im Winter der Fall ist, auch zu annähernd 100% (Carter et al. 2007). Dabei ist nicht nur das Weichgewebe von Tierfraß betroffen, auch die Knochen werden als Energie- und Mineralienlieferant genutzt. So zeigen exponierte Knochen häufig Fraßspuren von Ratten und anderen

Nagern (Klippel und Synsteli 2007). Die zurückbleibenden Skelettreste sind im weiteren Verlauf der Dekomposition nicht nur dem Abbau durch Bakterien und Pilze, sondern auch ungeschützt der Witterung und damit der Verwitterung ausgesetzt (Behrensmeyer 1978).

Die Geschwindigkeit der Verwitterung hängt dabei wiederum von der Umgebungstemperatur, dem Feuchtigkeitsregime, der Intensität der UV-Einstrahlung sowie der Bodenbeschaffenheit ab (Behrensmeyer 1978, Ross und Cunningham 2011, Trueman et al. 2004, Tuross et al. 1989b). Neben der raschen Auslaugung von Kollagen aufgrund von sich abwechselnden Austrocknungs- und Befeuchtungszyklen kann sich auch innerhalb kurzer Zeit nach dem Tod eine Reihe authigener Minerale in an der Erdoberfläche exponierten Knochen bilden (Barker et al. 1997).

1.4 Informationspotenzial von Knochengewebe

Unabhängig von der mikrostrukturellen Organisationsform des Gewebes stellt Knochen einen wichtigen Informationsträger dar, anhand dessen nicht nur makro- und mikromorphologisch Merkmale des Individuums wie Körperhöhe, Geschlecht, Sterbealter oder diverse, sich am Knochen manifestierende Pathologien und Traumata rekonstruiert werden können (z.B. Ortner und Putschar 1981, Robling und Stout 2000, Übersicht bei Herrmann et al. 1990). Auch auf molekularer Ebene ist das zusätzlich verwertbare Informationspotenzial enorm.

So birgt unter anderem die isotopische Analyse der Elemente aus der organischen und anorganischen Knochenfraktion ein hohes Potenzial an vielfältigen Informationen hinsichtlich der Datierung des untersuchten Fundes, der geographischen Herkunft des Individuums, dessen Ernährungsgewohnheiten und Wanderbewegungen sowie den zu Lebzeiten des Individuums vorherrschenden klimatischen Bedingungen.

Abb. 1.13 stellt eine Übersicht über die verschiedenen in Knochengewebe vorkommenden Isotopensysteme und deren praktische Anwendbarkeit für die Rekonstruktion der Lebensumstände des untersuchten Individuums dar.

Da die chemische Reaktivität eines Atoms von dessen Elektronenhülle bestimmt wird, verhalten sich die Isotope eines Elements aus chemischer Sicht, beispielsweise in Hinblick auf die Anzahl

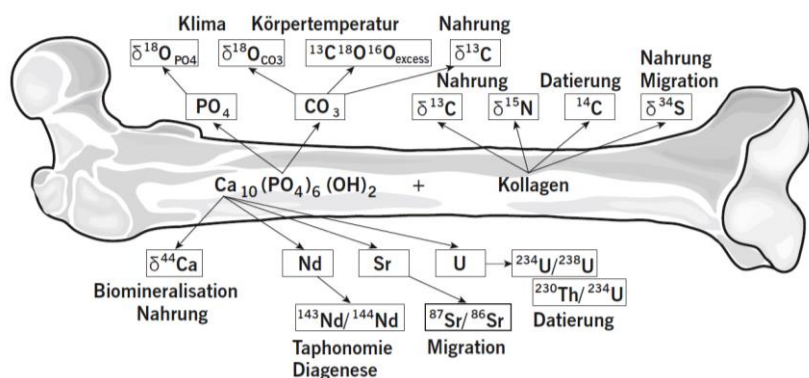


Abb. 1.13 Übersicht über die verschiedenen Isotopensysteme der beiden Hauptkomponenten des Knochens und deren Aussagepotenzial (nach Tütken 2010). In der vorliegenden Arbeit wurden die stabilen Isotope von C und N aus Kollagen, C und O aus dem strukturellen Karbonat sowie O aus dem Phosphat auf postmortale Veränderungen untersucht.

der möglichen Bindungen, qualitativ ähnlich. Jedoch unterscheiden sich Isotope auf physikalischer Ebene quantitativ, da die Schwingungsenergie des Atomkerns und damit die Reaktionsrate und Bindungsstärke von der Atommasse abhängt (Ben-David und Flaherty 2012, Fry 2006, Sulzman 2007). Hierbei sind die größten Unterschiede in den leichten Elementen zu finden, da bei diesen die prozentuale Massenänderung zwischen den Isotopen am größten ist (Sulzman 2007). Weicht die Anzahl von Neutronen und Protonen im Verhältnis nicht wesentlich voneinander ab ($\leq 1,5$), sind die entsprechenden Isotope energetisch eher stabil, d.h. sie zerfallen nicht. Andernfalls kommt es zum radioaktiven Zerfall, bis ein stabiler Zustand erreicht wird.

Auf der Erde kommen in etwa 300 stabile und mehr als 1200 radioaktive Isotope vor, wobei lediglich 21 Elemente nur ein einziges Isotop besitzen (Hoefs 2009). Prinzipiell sind die schwereren Isotope eines Elements in ökologischen bzw. biologischen Systemen seltener anzutreffen als die leichten (Ben-David und Flaherty 2012, Fry 2006; siehe Übersicht in Tabelle 1.1). Dies ist unter anderem darauf zurückzuführen, dass kinetische Reaktionen mit leichten Isotopen schneller ablaufen als mit dem schweren Äquivalent und daher in enzymatisch katalysierten Prozessen meist das leichtere Isotop bevorzugt wird (z.B. Abelson und Hoering 1961). Dafür sind Bindungen mit schwereren Isotopen stabiler (Ben-David und Flaherty 2012), was eine entscheidende Rolle bei Verdunstungs- oder Sekretionsprozessen spielt.

Diese Auftrennung nach Isotopengewicht anhand kinetischer und thermodynamischer Prozesse wird als Fraktionierung bezeichnet (z.B. Pollard und Wilson 2001, Sulzman 2007). In lebenden Systemen wird diese Fraktionierung durch das Zusammenspiel vom Bedarf und der Verfügbarkeit des aufgenommenen Substrats reguliert. Ist die Verfügbarkeit eingeschränkt und der Bedarf hoch, wird kaum gegen das schwere Isotop diskriminiert und das aufgebaute Gewebe reflektiert dann in seiner isotopischen Zusammensetzung direkt die des konsumierten Substrats. Herrscht jedoch ein Überangebot, wird stärker gegen das schwere Isotop diskriminiert (Montoya 2007).

Da der absolute Massenunterschied bei den Isotopen leichter Elemente nur sehr gering und damit schwer detektierbar ist, werden schweres und leichtes Isotop im Verhältnis zueinander gemessen, auf einen international anerkannten Standard bezogen und in Promille (‰) angegeben (nach McKinney et al. 1950):

$$\delta_{\text{schweres Isotop}} = \frac{R_{\text{Probe}} - R_{\text{Standard}}}{R_{\text{Standard}}} \times 1000 \quad ; \quad R = \frac{\text{schweres Isotop}}{\text{leichtes Isotop}}$$

Tabelle 1.1 Anteil der jeweiligen stabilen Isotope von Kohlenstoff, Stickstoff und Sauerstoff an der Gesamtkörpermasse eines 50 kg schweren Menschen. Die leichten Isotope sind deutlich häufiger vertreten (Angaben aus Wada and Hattori 1990, in Fry 2006).

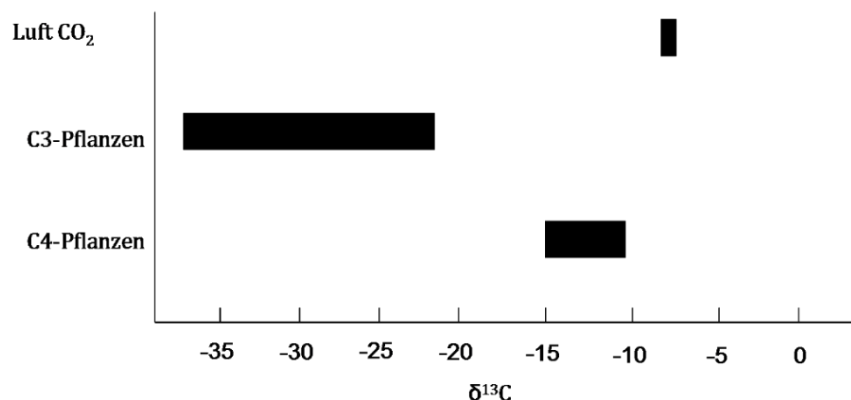
Element	Isotop	Gewicht [kg]/50kg Körpermasse
Kohlenstoff	¹² C	11,4
	¹³ C	0,137
Stickstoff	¹⁴ N	1,3
	¹⁵ N	0,0051
Sauerstoff	¹⁶ O	30,4
	¹⁸ O	0,0686

Details zu den in dieser Arbeit verwendeten Standards finden sich unter 3.5.2 und 3.8. Je höher der Anteil an schwerem Isotop in einer Probe ist, desto höher (positiver) wird folglich auch der δ -Wert.

1.4.1 Isotopenanalyse der organischen Knochenkomponente

Die für den Aufbau des Knochenkollagens verwendeten essentiellen Aminosäuren (siehe 1.2.1.1) werden aus der Eiweißkomponente der Nahrung rekrutiert und bilden somit in der Regel die isotopische Zusammensetzung des aufgenommenen Proteins ab (Hare et al. 1991, DeNiro und Epstein 1978). Dabei stammt der Stickstoff hauptsächlich aus tierischen Nahrungsquellen, während der Kohlenstoff aus pflanzlichem Protein bezogen wird (Katzenberg 2000). Die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte des Knochenkollagens sind damit ein Marker für den Anteil an C3- und C4-Pflanzen an der Gesamternährung, da diese aufgrund verschiedener Photosynthesemechanismen unterschiedlich stark gegen schweren Kohlenstoff diskriminieren¹⁰ (vgl. Abb. 1.14). Die pflanzliche Isotopensignatur wird schließlich mit einem Fraktionierungsfaktor von etwa +5 ‰ in das Kollagen des Konsumenten verstoffwechselt, welches folglich isotopisch die Art der aufgenommenen pflanzlichen Nahrung widerspiegelt (Hoefs 2009, Marshall et al. 2007).

Abb. 1.14 Verteilungsbereich der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte für C3- und C4-Pflanzen im Vergleich zu Luftkohlenstoff (Angaben aus Ambrose 1993, Cerling et al. 1997, Dawson et al. 2002, Marshall et al. 2007, O'Leary 1988).



Der in seinem Isotopenverhältnis ausgewogene Luftstickstoff ($\delta^{15}\text{N} = 0$ ‰) gelangt über stickstofffixierende Pflanzen in die Nahrungskette. Da Stickstoff ein wichtiger molekularer Baustoff ist, für welchen in der belebten Umwelt ein hoher Bedarf besteht, wird der gesamte zur Verfügung stehende Pool ohne nennenswerte Fraktionierung genutzt. Dennoch findet von einer Trophiestufe zur nächst höheren eine Anreicherung des schweren Stickstoffs ^{15}N um etwa 3-6 ‰ statt, da

¹⁰ Das von C3-Pflanzen für die Photosynthese als primärer CO₂-Akzeptor genutzte Enzym Ribulose-1,5-bisphosphat-Carboxylase/Oxygenase (Rubisco) diskriminiert stark gegen ^{13}C , was zu einer Abreicherung der Gewebe an schwerem Isotop führt. C4-Pflanzen dagegen fixieren den Luftkohlenstoff nach einem anderem Prinzip, und das hier als Akzeptor dienende Enzym Phosphoenolpyruvatcarboxylase (PEP) ist weit weniger selektiv gegen ^{13}C , weshalb die Gewebe deutlich höhere $\delta^{13}\text{C}$ -Werte aufweisen. Die in Mitteleuropa ursprünglich heimische Flora zählt zu den C3-Pflanzen, während wichtige Vertreter der Süßgräser wie Mais und Hirse den C4-Pflanzen angehören.

das leichte Isotop bei Exkretionsprozessen bevorzugt ausgeschieden wird (Ambrose 1993, Peterson und Fry 1987). Somit lassen sich anhand des $\delta^{15}\text{N}$ -Werts Herbivore, Omnivore sowie primär und sekundär Carnivore unterscheiden, da jener mit jeder Trophiestufe höhere Werte annimmt (Hedges und Reynard 2007, Minagawa und Wada 1984). Jedoch weisen hohe $\delta^{15}\text{N}$ -Werte nicht zwangsläufig auf proteinreiche Nahrung hin, denn auch bei Mangelernährung und Stoffwechselkrankheiten kommt es durch die katabole Verstoffwechselung körpereigener Proteine zu einer Anreicherung des schweren Stickstoffisotops in den Geweben, was zu einer Erhöhung der Isotopie um bis zu einer Trophiestufe führen kann (Hobson et al. 1993, Katzenberg und Lovell 1999, Neuberger et al. 2013, Mekota et al. 2006). Auch bei Kleinkindern, die gestillt werden bzw. wurden, zeigen die Körpergewebe einschließlich des Knochenkollagens einen signifikant erhöhten $\delta^{15}\text{N}$ -Wert, da das in der Muttermilch laktierender Säugetiere enthaltene Milchprotein in Bezug auf das schwere Isotop angereichert ist (Steele und Daniel 1978). Somit lassen sich mithilfe der Analyse stabiler Isotope Stilldauer und Entwöhnungsalter historischer Populationen bestimmen (z.B. Bourbou et al. 2013, Herring et al. 1998, Jay et al. 2008, Richards et al. 2002, Schurr 1998).

1.4.2 Isotopenanalyse des Knochenminerals

Nicht nur die Proteinkomponente des Knochens eignet sich für isotopische Analysen zur Entschlüsselung von gespeicherten Lebenslaufparametern des Individuums. Die mineralische Matrix rückt besonders dann ersatzweise oder ergänzend in den Fokus, wenn Kollagen nicht mehr in ausreichender Qualität vorliegt oder gar nicht mehr zur Verfügung steht, wie es meist bei Fossilien der Fall ist (Lee-Thorp und Sponheimer 2003). Denn auch aus der strukturellen Carbonatfraktion des Bioapatits lassen sich Ernährungsgewohnheiten rekonstruieren. Jedoch spiegelt hier der aus dem im Blut gelösten Bicarbonat eingebaute Kohlenstoff aufgrund anderer Stoffwechselmechanismen nicht nur die Signatur des Nahrungsproteins wider, sondern stammt aus allen als Energieträger aufgenommenen Nahrungsbestandteilen, also Kohlenhydraten und Fetten, aber auch Proteinen, welche nicht für die Proteinsynthese des Individuums verwendet werden (Ambrose und Norr 1993, Froehle et al. 2010, Howland et al. 2003, Kellner und Schoeninger 2007, Loftus und Sealy 2012, Warinner und Tuross 2009). Dies führt dazu, dass zwar anhand der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte ebenso zwischen herbi- und carnivoren Organismen unterschieden werden kann, jedoch weisen die Fraktionierungsfaktoren im Vergleich zum Kohlenstoff aus dem Kollagen Unterschiede auf. Nach Lee-Thorp et al. (1989) sind die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte aus dem Carbonat im Vergleich zu denen des Kollagens für Herbivore um ca. 7 ‰, für Omnivore um etwa 5 ‰ und für Carnivore um ca. 4 ‰ angereichert. Die Differenzen zwischen den Trophiestufen sind durch die unterschiedliche Isotopie der jeweils konsumierten Gewebe erklärbar. So nehmen Carnivore mit ihrer Nahrung einen signifikanten Anteil an Fettgewebe auf, welches in Bezug auf das schwere Kohlenstoffisotop angereichert und damit isotopisch leichter als andere Körper- oder Pflanzengewebe ist (DeNiro und Epstein 1977, Tieszen und Fagre 1993, Winkler und Schmidt 1980). Somit können durch einen Vergleich von $\delta^{13}\text{C}_{\text{Kollagen}}$ und $\delta^{13}\text{C}_{\text{Carbonat}}$ diejenigen Nahrungsquellen identifiziert werden, welche

in der Gesamternährung über- oder unterrepräsentiert sind, was besonders den Anteil konsumierter Fette betrifft (Harrison und Katzenberg 2003, Loftus und Sealy 2012).

Kohlenstoff ist nicht das einzige in der mineralischen Matrix vorkommende Element, welches *in vivo* erworbene Informationen über das Individuum enthält.

Eine weitere wichtige Informationsquelle stellt das Verhältnis der stabilen Sauerstoffisotope ^{18}O und ^{16}O dar, welches sowohl aus der strukturellen Carbonatfraktion als auch aus den Phosphatgruppen des Bioapatits gewonnen werden kann, da die Bausteine für beide Komponenten aus dem Blut rekrutiert und für sie somit linear korrelierende $\delta^{18}\text{O}$ -Werte postuliert werden (Bryant et al. 1996, Iacumin et al. 1996, Kirsanow und Tuross 2011).

Dabei sind etwa 85-92 % des Gesamtsauerstoffs im Knochen im Phosphat und ca. 5 % im strukturellen Carbonat gebunden (Kohn und Cerling 2002, Tütken 2010). Da bei homoiothermen Tieren wie dem Menschen während der Bildung der körpereigenen Hartgewebe immer dieselbe Körperkerntemperatur herrscht, ist auch der Fraktionierungsfaktor der Sauerstoffisotope zwischen Körperwasser und Körpergewebe konstant (Bryant et al. 1996, Longinelli 1984, Luz und Kolodny 1985). Aus diesem Grund kann vom Sauerstoffisotopenverhältnis des Carbonats und Phosphats im Knochen auf die isotopische Zusammensetzung des Körperwassers und damit auf die des aufgenommenen Trinkwassers bzw. meteorischen Wassers¹² geschlossen werden, da die meisten größeren, obligat trinkenden Säugetiere den in das Knochenmineral eingebauten Sauerstoff hauptsächlich aus dem Trinkwasser sowie der Nahrungsfeuchte beziehen (Bocherens et al. 1996, D'Angela und Longinelli 1990, Daux et al. 2008, Kohn et al. 1996, Luz und Kolodny 1985). Aufgrund der hohen physiologischen und metabolischen Variabilität der verschiedenen Tierarten sind die Fraktionierungsfaktoren zwischen aufgenommenem Wasser, Körperwasser und Knochengewebe taxonspezifisch und müssen jeweils mit Kalibrationsgeraden verglichen werden (Bryant und Froelich 1995, Kohn et al. 1996, Longinelli 1984, Sealy 2001, Sponheimer und Lee-Thorp 1999). Generell ist jedoch der $\delta^{18}\text{O}$ -Wert des Carbonats und Phosphats aus dem Knochen gegenüber dem des Körperwassers erhöht, sprich das Gewebe ist mit schwerem Sauerstoff angereichert (Luz et al. 1990, White et al. 1998). Diese Grundlagen bilden das Gerüst für die Rekonstruktion der klimatischen Bedingungen vergangener Zeiten, da die isotopische Signatur des stoffwechselten Trinkwassers, welche sich in den Hartgeweben der Konsumenten widerspiegelt, von der Entfernung zum Ozean, der orographischen Höhe, der geographischen Breite sowie der Art und Menge des Niederschlags abhängt (zur Übersicht siehe Abb. 1.15).

So ermöglicht die Analyse stabiler Sauerstoffisotope aus Skelettmaterial von Menschen und Tieren die Detektion und Rekonstruktion von Migrationsbewegungen und Handel zwischen klimatisch voneinander abweichenden Regionen (Chenery et al. 2010, Dupras und Schwarcz 2001, Evans et al. 2006, Grimes et al. 2003).

¹¹ Sauerstoff kommt auf der Erde in 3 stabilen Isotopen vor ^{16}O , ^{17}O und ^{18}O . Da ^{17}O jedoch mit nur 0,038 % einen sehr geringen Anteil an der isotopischen Gesamtzusammensetzung hat ($^{16}\text{O} = 99,757\%$, $^{18}\text{O} = 0,205\%$; Hoefs 2009), wird es in der Isotopenanalyse nicht berücksichtigt.

¹² Atmosphärisches Wasser, welches als Niederschlag auf die Erde niedergegangen ist, wird als meteorisches Wasser bezeichnet und umfasst daher Flüsse, Seen und Schmelzwasser.

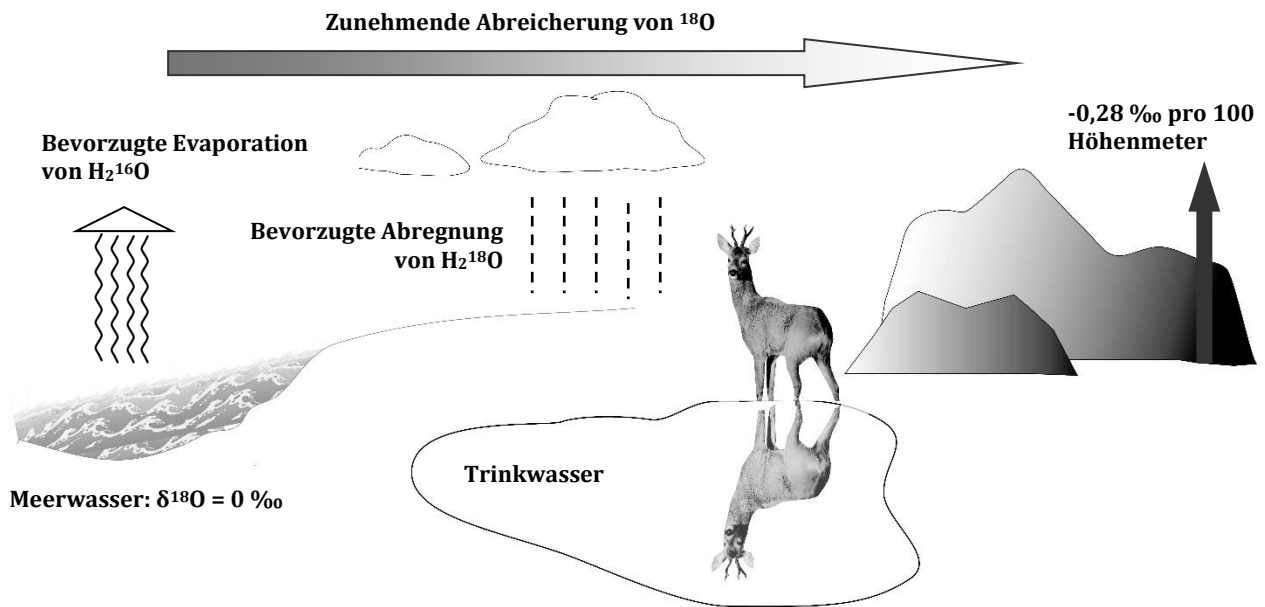


Abb. 1.15 Darstellung des Prinzips der Rayleigh-Fraktionierung und deren Einfluss auf die lokale Sauerstoffisotopie des konsumierten Trinkwassers durch fortlaufende Destillation und Abregnung (Gat 1996, Schürch et al. 2003). Der $\delta^{18}\text{O}$ -Wert der Ozeane ist für biologische Zeiträume als konstant zu betrachten und liegt bei etwa 0 ‰ (Hoefs 2009). Aus thermodynamischen Gründen verdampft H_2^{16}O bereitwilliger als H_2^{18}O , weshalb die Wasserdampf-Phase gegenüber der flüssigen Phase isotopisch abgereichert ist. Durch die anschließende Abregnung des kondensierten Wassers fallen wiederum zuerst Wassermoleküle, welche aus dem schweren Sauerstoffisotop aufgebaut sind, als meteorisches Wasser zurück auf die Erde, was zu einer zunehmenden Abreicherung des Wasserdampfs in der Atmosphäre mit zunehmender Entfernung von der Küste führt. Niederschläge, die als Schnee, Hagel oder aus stark konvektiven Systemen wie Gewitterzellen fallen, weisen jedoch einen höheren Anteil isotopisch leichter Moleküle auf, weshalb in Gebirgsregionen und Gletschern stark erniedrigte $\delta^{18}\text{O}$ -Werte anzutreffen sind (Dansgaard 1953, Gat 1996). Das von den Tieren konsumierte Trinkwasser und damit auch deren Körperwasser spiegelt damit die relative Entfernung zum Ozean, die klimatischen Bedingungen sowie die Höhenlage wider, in der sie sich zu Lebzeiten aufhielten.

1.5 Qualitätssicherung von Isotopenanalysen

Es ist für archäometrische Analysen entscheidend, solche durch diagenetische Prozesse derart modifizierten Proben zu erkennen, welche mit hoher Wahrscheinlichkeit von der *in vivo* erworbenen Isotopensignatur aberrant und somit verfälschte Daten liefern, was zu gravierenden Fehlinterpretationen hinsichtlich der biologischen und kulturhistorischen Aussage führen könnte. Für die Rekonstruktion biologischer und umweltbezogener Informationen müssen die physikochemischen Eigenschaften des Knochens während aller Diagenesestadien unverfälscht erhalten bleiben (Trueman 2013). Daher wird seit mehreren Jahrzehnten an der Erforschung diagenetischer Veränderungen von Knochengewebe und an der Erarbeitung verlässlicher Indikatoren gearbeitet, welche das Ausmaß der chemischen Veränderungen der einzelnen Komponenten des Knochens charakterisieren und somit dessen Brauchbarkeit für archäometrische Analysen anzeigen sollen. Knochen, deren Daten von den definierten Grenzwerten abweichen, werden von der weiteren Auswertung ausgeschlossen. Obwohl es insbesondere für die organische Knochenfraktion eine Reihe publizierter und auch routinemäßig verwendeter Qualitätskriterien gibt, ist

deren Aussagegehalt und Nutzen für die Aussortierung diagenetisch veränderter Proben in der Fachwelt teilweise stark umstritten (Harbeck und Grupe 2009).

1.5.1 Marker für die Integrität des Kollagens

Schon lange wurde versucht, den Erhaltungszustand bzw. die Aussicht auf eine erfolgreiche Extrahierbarkeit des Knochenkollagens an makro- und mikroskopischen Merkmalen diagenetisch veränderten Knochens festzumachen. So wurde in einigen Studien ein Zusammenhang zwischen der Mikroporosität des Gewebes und dem Erhaltungszustand der Biomoleküle erkannt (Brock et al. 2010, Nielsen-Marsh und Hedges 1999, Turner-Walker et al. 2002), andere Studien korrelieren die histologische Integrität, also die Intensität der bakteriellen Aktivität, mit der Konservierung von Kollagen (z.B. Hollund et al. 2013, Jans et al. 2002, Turner-Walker et al. 2002, Turner-Walker und Syversen 2002). Jedoch bestätigen nicht alle Autoren einen unbedingt aussagekräftigen Zusammenhang zwischen histologischem Erscheinungsbild und dem Erhaltungsgrad der Proteinkomponente des Knochens (Hedges et al. 1995, Hoke et al. 2011, Pfeiffer und Varney 2000). Eine etwas bessere Korrelation zeigte sich in eigenen Studien mit der Farbe des Knochens bei Bestrahlung des polierten Querschnitts mit UV-Licht. Die für frischen Knochen typische bläuliche Fluoreszenz kann demnach eher mit gutem Kollagenerhalt in Verbindung gebracht werden, während das Auftreten einer gelblichen/braunen Färbung eine diagenetische Kompromittierung der Proteinkomponente andeutet (Hoke et al. 2011).

Unterschieden werden sollte generell nach einer quantifizierenden und qualifizierenden Beurteilung der Kollagenintegrität, wenngleich einige Studien zu dem Schluss kommen, dass die Quantität des extrahierbaren Kollagens in Prozent relativ zum Gesamtgewicht des Knochens selbst auf dessen Qualität schließen lässt (z.B. Ambrose 1990, 1993). Dabei sind die festgesetzten Grenzwerte, oberhalb derer das extrahierte Protein in ausreichend gutem Zustand für weiterführende Analysen sein soll, variabel und reichen von 0,5 % bis 2,0 % (DeNiro und Weiner 1988, Dobberstein et al. 2009, van Klinken 1999). Die im Kollagen gespeicherten Informationen sollen demnach relativ unberührt bleiben, bis ein kritischer Punkt der Denaturierung der Fibrillen und damit ein zu großer Verlust an Molekülen erreicht ist (Koon et al. 2010). Dies ist jedoch umstritten. Während einige Studien erst bei extrem geringen Extraktionsausbeuten von wenigen Gewichtsprozent-Werten signifikante Änderungen in den entsprechenden Aminosäureprofilen feststellen (Hare 1980, Masters 1987), sehen andere bereits bei höheren Gewichtsanteilen Modifikationen (Harbeck und Grupe 2009, Grupe und Turban-Just 1998, Schoeninger et al. 1989, Tuross 2002).

Es gibt jedoch noch weitere Charakteristika, welche die Kollagenkonservierung qualitativ bewerten, und diese ergeben sich direkt aus der chemischen Zusammensetzung des Polypeptids. Aufgrund des homogenen Aufbaus der Kollagentriptide aus einer relativ konservativen Anordnung von Aminosäuren sind auch die Gewichtsanteile der Hauptelemente der Aminosäuren in etwa konstant, woraus sich rechnerisch ein Anteil von % C \sim 43 und % N \sim 15,5 ergibt. Aus diesen lässt sich ein molarer C/N-Quotient von 3,21 ableiten (Ambrose 1993, Reiche et al. 2003, Stafford et al.

1988), welcher in zahlreichen Studien als gängigster Indikator für den Erhaltungszustand von Kollagen verwendet wird. Jedoch ist auch die uneingeschränkte Verwendung der oben genannten Parameter bei isolierter Betrachtung durchaus kritisch zu bewerten, denn nicht alle degradierten bzw. kontaminierten Proben werden auf diese Weise erfasst (DeNiro 1985, DeNiro und Weiner 1988, Lösch et al. 2006, Nicholson 1998, Schoeninger et al. 1989). Die Verschiebung des molaren C/N-Quotienten und der Gewichtsanteile von Kohlenstoff und Stickstoff durch den degradativen (partiellen) Verlust von Bestandteilen des Polypeptids kann durch die Kontamination mit exogenen organischen Substanzen, vornehmlich Huminstoffen (Brock et al. 2013) oder bakteriellen Proteinen, potenziell in den Normbereich zurück verschoben werden und so einen guten Kollagenerhalt vorspiegeln. Weiterhin sind die für guten Kollagenerhalt definierten Grenzwerte (siehe Tabelle 1.2) strittig und eventuell zu eng gefasst (Coltrain et al. 2004, Grupe et al. 2003). Taxonbedingte Abweichungen sowie die physiologische Spannbreite oder die Auswirkung pathologischer Zustände auf den molaren C/N-Quotienten sind bislang noch nicht systematisch erforscht. Die augenscheinlich sicherste Methode, den Erhaltungszustand von Kollagen zuverlässig darzustellen, ist die Erstellung eines Aminosäureprofils (Harbeck und Grupe 2009), da so direkt die molekulare Komposition des Proteins offengelegt und Abweichungen von der Norm erkannt werden können.

Tabelle 1.2 zeigt eine zusammenfassende Darstellung der beschriebenen Qualitätskriterien und ihre in der Literatur festgelegten Grenzwerte für ausreichend gut erhaltenes Kollagen.

Tabelle 1.2 Zusammenfassung der gängigsten Qualitätskriterien zur Beurteilung des Erhaltungszustands von Knochenkollagen.

Kriterium	Durchschnittswert für frisches Kollagen	Grenzwerte für ausreichend guten Kollagenerhalt
molarer C/N-Quotient	3,21 (Aije et al. 1991, Ambrose 1990, 1993)	2,8 - 3,6 (Ambrose 1990, 1993, DeNiro 1985, van Klinken 1999)
% C	± 43 (Ambrose 1990, 1993)	30 – 45 (van Klinken 1999)
% N	± 15 (Ambrose 1990, 1993)	11 – 16 (van Klinken 1999)
Gewichtsprozent Kollagen	± 20 (Ambrose 1990, van Klinken 1999)	> 0,5 – 2 (Ambrose 1990, Dobberstein et al. 2009, van Klinken 1999)
mol% gly	± 33 (Balzer et al. 1997)	31 – 37 (Ambrose 1993)
mol% pro	± 13 (Balzer et al. 1997)	8 – 14 (Ambrose 1993)
mol% OH-pro	± 9 (Balzer et al. 1997)	7 – 11 (Ambrose 1993)
gly/glu	3-5 (Taylor et al. 1989, 1995)	> 2,5 (Taylor et al. 1989)
gly/asp		6 – 7 (Tuross et al. 1988)
asp/gly		< 10 (Ambrose 1993)
OH-pro/asp		> 1,5 (Ambrose 1993)
Aminosäuregehalt [nmol/mg]	6000 (Tuross et al. 1988)	> 250 (Ambrose 1993)

Neben den beschriebenen, bereits seit einigen Jahrzehnten für die Beurteilung der Kollagenqualität in Hinblick auf archäometrische Analysen angewandten Merkmalen, hat in den

letzten Jahren die Bedeutung spektrometrischer Verfahren auf diesem Gebiet stärker zugenommen. Jedoch ist auch hier die Datenbasis von Studien, welche sich auf diese Weise mit der Untersuchung des Erhaltungszustands der organischen Knochenfraktion beschäftigen, noch relativ gering (z.B. Chadeaux et al. 2009, Lebon et al. 2011, Turner-Walker und Syversen 2002).

1.5.2 Methoden zur Erkennung diagenetischer Veränderungen des Minerals

Trotz intensiver Forschungsbemühungen und zahlreicher experimenteller Ansätze, die im Folgenden teilweise dargestellt werden, gibt es bislang noch keinen zuverlässigen Indikator für die Erhaltungsqualität des Knochenminerals (Shin und Hedges 2012), was eine alles andere als optimale Ausgangssituation für die Analyse der stabilen Isotope der mineralischen Fraktion des Gewebes darstellt. Dabei stellen Wright und Schwarcz (1996) in ihrer Studie fest, dass auch in relativ jungem archäologischem Material bereits eine gravierende Modifikation des Knochenminerals stattfinden und aus diesem kein biogenes Isotopensignal mehr gewonnen werden kann. Andererseits lässt sich aber auch nicht folgern, dass Knochen mit längeren Liegezeiten zu stark diagenetisch modifiziert sind, um die *in vivo* erworbene Isotopenzusammensetzung des Gewebes rekonstruieren zu können (Lee-Thorp und Sponheimer 2003).

Das Hauptproblem bei der Untersuchung von Knochenmineral dürfte darin bestehen, dass diese meist mit einem hohen apparativen Aufwand verbunden ist und daher oft nur von spezialisierten Einrichtungen geleistet werden kann. Kolodny et al. (1996) empfehlen, die Auswahl von für Isotopenanalysen an der mineralischen Knochenfraktion geeignete prähistorische Proben von einem Kriterienkatalog abhängig zu machen, welcher neben der Verwendung von Zahnschmelz anstelle von Knochen eine genaue mikrostrukturelle Untersuchung der Probe, eine Analyse hinsichtlich eingewanderter Fremdionen sowie einen Vergleich zwischen dem Verhältnis der stabilen Sauerstoffisotope aus Carbonat und Phosphat vorsieht. Da dies sowohl einen enormen materiellen als auch zeitlichen Aufwand bedeutet, ist diese Vorgehensweise kaum geeignet für die routinemäßige Untersuchung größerer Probenkollektive.

Der Vergleich der Daten der Analyse stabiler Sauerstoffisotope gewonnen aus der strukturellen Carbonat- und Phosphatfraktion wird als ein Verfahren diskutiert, das diagenetische Veränderungen des Knochenminerals anzeigen soll. Da sich sowohl das Sauerstoffisotopenverhältnis von Carbonat als auch das von Phosphat mit dem Körperwasser, aus dem der Sauerstoff rekrutiert wird, im Gleichgewichtszustand befindet, wurde ein linearer Zusammenhang für die $\delta^{18}\text{O}$ -Werte der beiden Komponenten postuliert (Longinelli 1984, Iacumin et al. 1996, Zazzo et al. 2004a), welcher beispielsweise durch die von Iacumin et al. (1996) formulierte Gleichung:

$$\delta^{18}\text{O}_{\text{Phosphat}} = 0,98 \times \delta^{18}\text{O}_{\text{Carbonat}} - 8,5$$

ausgedrückt wurde. Abweichungen von der linearen Korrelation sollten die diagenetische Veränderung der Isotopenwerte einer oder beider Komponenten anzeigen. Jedoch konnte in anderen

Studien wiederum keine sinnvolle Aussagekraft des Vergleichs der Isotopenverhältnisse von Carbonat und Phosphat zur Detektion postmortalen Abbauprozesse festgestellt werden (Metcalf et al. 2009).

Ein weiterer häufig verwendeter Ansatz, der das Knochenmineral hinsichtlich diagenetischer Modifikationen charakterisieren soll, ist die Feststellung des Carbonat- zu Phosphat-Verhältnisses (C/P), welches mittels FTIR-Spektroskopie bestimmt wird (z.B. Lee-Thorp und van der Merwe 1991, Nielsen-Marsh und Hedges 2000a, Pucéat et al. 2004). Hierbei wird die Intensität von Carbonat- und Phosphatbanden relativ zueinander verglichen und wiederum einer Wertespanne zugeordnet, welche die Eignung der Probe für Isotopenanalysen an der mineralischen Fraktion anzeigen soll. Niedrige C/P-Werte deuten dabei in der Regel auf einen diagenesebedingten Verlust von strukturellem Carbonat hin, während hohe Werte für die Inkorporierung von Carbonat aus dem Begräbnismilieu durch Ionensubstitution sprechen (Nielsen-Marsh und Hedges 2000a). Ebenso könnte auch ein Verlust von Phosphationen stattgefunden haben. Jedoch sind auch die Qualitäten des C/P-Verhältnisses als Diageneseindikator durch einige Probleme eingeschränkt. Zum einen unterscheiden sich die in der Literatur angegebenen Grenzwerte für guten Knochen-erhalt, da sich verschiedene Studien jeweils auf andere Berechnungsgrundlagen stützen. So geben Wright und Schwarcz (1996) sowie Garvie-Lok et al. (2004) einen Wert von etwa 0,23 – 0,25 für frischen Knochen an, welchen die Autoren über das Verhältnis der ν_3 -Carbonatbande bei 1415 cm^{-1} zur Hauptphosphatbande (ν_3) bei 1035 cm^{-1} berechnen. Nielsen-Marsh und Hedges (2000a) kommen mit derselben Berechnung auf einen Zielwert von 0,36, während Patonai et al. (2012) für forensische Proben Werte zwischen 0,38 – 0,88 angeben. Lee-Thorp und van der Merwe (1991) korrelieren die ν_3 -Carbonatbande (1410 cm^{-1}) mit der ν_4 -Phosphatbande bei ca. 610 cm^{-1} und erhalten so für die untersuchten frischen Knochen Werte zwischen 0,9 – 1,0. Pucéat et al. (2004) verfolgen in ihrer Studie einen weiteren Berechnungsansatz, indem sie die Intensitäten beider ν_3 -Carbonatschwingungen und beider ν_4 -Phosphatschwingungen addieren und dann in Relation setzen. Die so erhaltenen Werte für frische Knochen (Reptilien, Fische, Seekuh) reichen von 0,50 – 0,92. Tabelle 1.3 fasst alle Berechnungsansätze und Grenzwerte in einer Übersicht zusammen. Aufgrund der großen Spanne der Werte für modernes Knochenmaterial wird vermutet, dass es speziesabhängige, metabolische Variationen im Carbonatgehalt von Knochen geben könnte (Wright und Schwarcz 1996).

Der gängigste, aber zugleich auch einer der umstrittensten Qualitätsindikatoren hinsichtlich der Beurteilung diagenetischer Veränderungen des Knochenminerals, ist die Feststellung von dessen Kristallinität, ausgedrückt durch den ursprünglich von Shemesh (1990) im mineralogischen Kontext eingeführten sogenannten Kristallinitätsindex (CI), welcher als Maß für die Kristallgröße der im Knochen vorhandenen Phosphatphasen und deren Ordnungsgrad innerhalb des Kristallgitters gilt (Schiegl et al. 2003).

1. EINLEITUNG

Tabelle 1.3 Zusammenfassung der in der Literatur verbreiteten Ansätze zur Berechnung des C/P-Wertes von Knochenmineral aus FTIR-Spektren und Wertebereich frischer Knochen.

Berechnungsgrundlage FTIR-Spektrum	C/P-Werte frische Knochen	Autoren
$1415\text{ cm}^{-1}/1035\text{ cm}^{-1}$ ($\nu_3\text{ CO}_3^{2-}/\nu_3\text{ PO}_4^{3-}$)	0,23 - 0,25 0,36 0,38 - 0,88	Wright und Schwarcz (1996), Garvie-Lok et al. (2004) Nielsen-Marsh und Hedges (2000a) Patonai et al. (2012)
$1410\text{ cm}^{-1}/610\text{ cm}^{-1}$ ($\nu_3\text{ CO}_3^{2-}/\nu_4\text{ PO}_4^{3-}$)	0,90 - 1,00	Lee-Thorp und van der Merwe (1991)
$(1460\text{ cm}^{-1} + 1425\text{ cm}^{-1})/$ $(605\text{ cm}^{-1} + 568\text{ cm}^{-1})$ $[(\nu_3\text{ CO}_3^{2-} + \nu_3\text{ CO}_3^{2-})/(\nu_4\text{ PO}_4^{3-} + \nu_4\text{ PO}_4^{3-})]$	0,50 - 0,92	Pucéat et al. (2004)

Am weitesten verbreitet ist die Bestimmung des CI anhand von FTIR-Spektren nach der von Weiner und Bar-Yosef (1990) etablierten Methode, welche die Kristallinität an der Intensität der Peakaufspaltung der ν_4 -Phosphatschwingung bei 605 cm^{-1} bzw. 565 cm^{-1} festmacht (vgl. Abb 1.16). Es gibt jedoch auch andere Ansätze, nach denen die Kristallinität aus Röntgendiffraktogrammen und Raman-Spektren errechnet wird (z.B. Person et al. 1995, Pucéat et al. 2004).

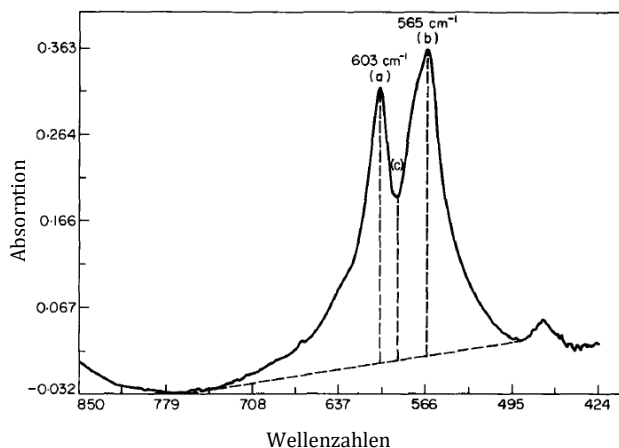


Abb. 1.16 Gängige Berechnung des Kristallinitätsindex (CI) nach Weiner und Bar-Yosef (1990) anhand der Peakaufspaltung der ν_4 Phosphatschwingung im FTIR-Spektrum. $CI = (a+b)/c$.

Die Analyse von Kristallinit  tsver  nderungen stützt sich auf die Annahme, dass sich die Kristallinität des Knochenminerals nach dem Tod des Individuums durch den Einfluss externer Faktoren erhöht, da sich die *in vivo* thermodynamisch metastabilen Knochenkristallite in eine nach physikochemischen Gesichtspunkten stabilere Form umwandeln (siehe auch 1.3.2). Ein Anstieg des CI soll damit unmittelbar das Ausmaß diagenetischer Veränderungen der mineralischen Knochenfraktion charakterisieren. Dabei wird ein CI (FTIR) von 2,5 - 2,9 für unveränderten Knochen postuliert (Schiegl et al. 2003, Stiner et al. 1995, Weiner

et al. 1993), während archäologisches Material Kristallinitätswerte zwischen 2,8 – 3,9 annehmen soll (Sillen und Parkinson 1996, Smith et al. 2007). Extrem degradiert oder verbrannter Knochen mit hohem Organisationsgrad weist Werte über 4 auf (Smith et al. 2007), fossilisierte oder calcinierte Proben zeigen Werte bis 7 (Stiner et al. 1995, Weiner und Bar-Yosef 1990). Es gibt auch Versuche, den Kristallinitätsindex mit der Liegezeit zu korrelieren und so forensisch relevante Proben von älterem Material zu unterscheiden (Patonai et al. 2012). Jedoch können sich deutliche Veränderungen am Mineral und damit auch der Kristallinität bereits wenige Jahre nach dem Tod manifestieren (Shinomiya et al. 1998, Trueman et al. 2008), während auch in Knochen

mit längeren Liegezeiten niedrige Kristallinitätswerte auftreten können, was in einer eigenen, an neolithischem Material durchgeführten Vorstudie bestätigt wurde (Daten unveröffentlicht)¹³.

FTIR-Analysen bieten noch weitere Anhaltspunkte, anhand derer die generelle Integrität des Knochenminerals beurteilt werden kann. Enthält eine Probe Spuren authigenen Calcits, erscheinen im FTIR-Spektrum charakteristische Banden, welche die Kontamination anzeigen. Dabei wird die Bande bei etwa 713 cm^{-1} ausschließlich Calcit zugeordnet, weitere Banden bei 1435 cm^{-1} und $866 - 875\text{ cm}^{-1}$ werden sowohl durch strukturelles als auch diagenetisches Carbonat erzeugt (Nielsen-Marsh und Hedges 2000a, Metcalfe et al. 2009). Ein normalerweise nur in geologischem Hydroxylapatit auftretender Peak bei 3564 cm^{-1} , welcher einer OH-Schwingung entspricht (Pasteris et al. 2004, Rey et al. 1995), kann ein Hinweis auf Rekristallisationsphänomene sein, wenn er in Knochen beobachtet wird (Metcalfe et al. 2009).

Weit weniger gängig im Vergleich zu FTIR-Studien ist die Beurteilung von Raman-Spektren im Hinblick auf die Beurteilung diagenetischer Veränderungen des Knochenminerals. Thomas et al. (2007) definierten in ihrer Studie zusammenfassend eine Reihe von Kriterien, welche Modifikationen des Minerals anzeigen sollen. Dazu zählt die absolute Wellenlänge der ν_1 -Hauptphosphatbande, welche sich in unverändertem Knochen in einem Bereich von $962 - 964\text{ cm}^{-1}$ bewegen sollte. Ist die Bande in höhere Wellenlängenbereiche verschoben, wird eine Substitution von Kationen im Kristallgitter vermutet. Ist sie niedriger angesiedelt, wird von einer Anionensubstitution ausgegangen (vornehmlich durch F^-). Die Bandenverschiebung resultiert aus einer Konformationsänderung des Kristalls durch Verzerrungen, welche durch die Inkorporierung von Fremdionen entstehen. Ein weiterer Anhaltspunkt ist die Halbwertsbreite der ν_1 -Hauptphosphatbande, welche die Heterogenität der PO_4^{3-} -Dehnungsumgebung anzeigt. Bei unveränderten Knochen sollte sie einen Wert von $15 - 17\text{ cm}^{-1}$ aufweisen. Die Präsenz von authigenem Calcit kann über eine akzessorische Bande bei 1085 cm^{-1} nachgewiesen werden, während sich der Anteil von strukturellem Typ B Carbonat im Knochen durch das Verhältnis der Banden bei 1073 cm^{-1} und 963 cm^{-1} berechnen lässt (Awonusi et al. 2007, Penel et al. 1998). Für frische Knochen ergibt sich daraus ein Wert von $17,7 - 18,3\%$.

Lumineszierende Fremdionen (Seltenerdmetalle) lassen sich vermutlich nur mit längeren Anregungswellenlängen (Nd:YAG¹⁴-Laser) nachweisen.

Das generelle Problem bei der Definition solider Qualitätskriterien ist die Inkonsistenz des Untersuchungsmaterials (verschiedene Spezies, unterschiedliche Skelettelemente) sowie der Mangel an einer breiten Vergleichsdatenbasis aus frischem Knochenmaterial, welches eine zuverlässige Definition der physiologischen Spannbreite der Werte zulassen würde. Auch ist die Anzahl an Studien zu gering, welche systematische Untersuchungen an experimentell degradiertem, frischem Knochenmaterial durchführen und sowohl die organische als auch die anorganische Knochenfraktion analysieren. Hier setzt die vorliegende Arbeit an.

¹³ Alle der 9 untersuchten Proben der in Südost-Anatolien liegenden mesolithischen Fundkomplexe Göbekli- und Gürçütepe wiesen CI-Werte zwischen 2,6 und 3,3 auf, jedoch teilweise stark erhöhte C/P-Werte, was auf einen Nettogewinn an Carbonat aus dem Bestattungsmilieu hindeutet.

¹⁴ Neodym-dotierter Yttrium-Aluminium-Granat-Laser, Anregungswellenlänge üblicherweise 1064 nm (z.B. Halcrow et al. 2014)

2. Material

Um der Fragestellung der vorliegenden Arbeit nach der Untersuchung diagenetischer Veränderungen und deren Auswirkung auf die Analyse stabiler Isotope von Knochengewebe möglichst umfassend gerecht zu werden, wurde der Fokus bei der Auswahl der Proben auf verschiedene Aspekte gelegt. So wurden unterschiedliche Stichprobenkomplexe analysiert, die sich sowohl in ihrer Liegezeit als auch den taphonomischen Rahmenbedingungen unterschieden, wobei das Augenmerk besonders auf der Charakterisierung diagenetischer Prozesse in der frühen Phase der Knochendekomposition lag, also in der forensisch relevanten Zeitspanne von wenigen Jahren bis Jahrzehnten nach dem Tod des Individuums.

Hierfür wurden 50 Langknochenproben von einem rezenten Münchner Friedhof untersucht, welche durch kurze und exakt definierte Liegezeiten im Boden charakterisiert waren, und 35 archäologischen Skelettfunden aus unterschiedlichen zeitlichen Epochen gegenübergestellt. Alle Funde stammen aus Deutschland und somit aus einer klimatisch gemäßigten Region, jedoch variiert die Bodenbeschaffenheit von Fundort zu Fundort. Bodenproben standen allerdings zur genaueren Analyse nur vom Westfriedhof München zur Verfügung (siehe 3.1). Es wurde Wert darauf gelegt, aus Gründen der besseren Vergleichbarkeit ausschließlich Langknochen zu analysieren, da andere Knochen des Körpers mit dünnerer Compacta, wie Rippen oder Finger, anderen diagenetischen Mechanismen unterworfen sein könnten (1.3.3). Die Knochen wurden stets im oberen Drittel der Diaphyse beprobt.

Da toter, taphonomischen Prozessen unterworfenen Knochen in Bezug auf den Erhaltungszustand und insbesondere auf die isotopische Zusammensetzung des Gewebes nur den *Status quo* zum Zeitpunkt des Auffindens abbildet, man jedoch durch die fehlende Referenz nicht auf die isotopischen Ausgangswerte des Knochens vor bzw. zum Zeitpunkt des Todes schließen kann, wurden zwei verschiedene Degradationsexperimente an 3 frischen humanen Femora von Gewebespendern durchgeführt. Zum einen wurden die Knochen für eine beschleunigte Degradation über einen definierten Zeitraum in Wasser gekocht ($n = 33$), zum anderen wurden sie mit ausgewählten aeroben und anaeroben Mikroorganismen beimpft und mehrere Monate lang inkubiert ($n = 18$).

Der vierte Stichprobenkomplex bildete lediglich ein indirektes Vergleichskollektiv, da sich die Proben in mehrererlei Hinsicht von den übrigen untersuchten Knochen unterschieden. Zum einen

handelte es sich um tierisches Knochenmaterial, welches aufgrund des abweichenden Aufbaus potenziell anderen diagenetischen Mechanismen unterworfen ist als menschliches Gewebe (1.2.2). Zum anderen unterscheidet sich die Dekomposition unbestatteter Kadaver grundlegend von der beerdigter Körper (vgl. 1.3.3.2). Jedoch ist bislang sehr wenig hinsichtlich des frühdiagenetischen Verhaltens insbesondere des Knochenminerals bei oberflächlicher Deposition bekannt, und es war in diesem Zusammenhang nicht möglich, humanes Material zu untersuchen. Daher wurden in einem Kooperationsprojekt 10 frische Rehkadaver im Nationalpark Bayerischer Wald ausgelegt, welche zum Zeitpunkt der Deposition und anschließend zwei Mal im Abstand von ca. drei Monaten beprobt wurden. Daraus ergab sich ein Probenvolumen von $n = 30$.

Die analysierte Gesamtprobenanzahl aller Stichprobenkomplexe betrug somit $n = 169$ (siehe Abb. 2.1).

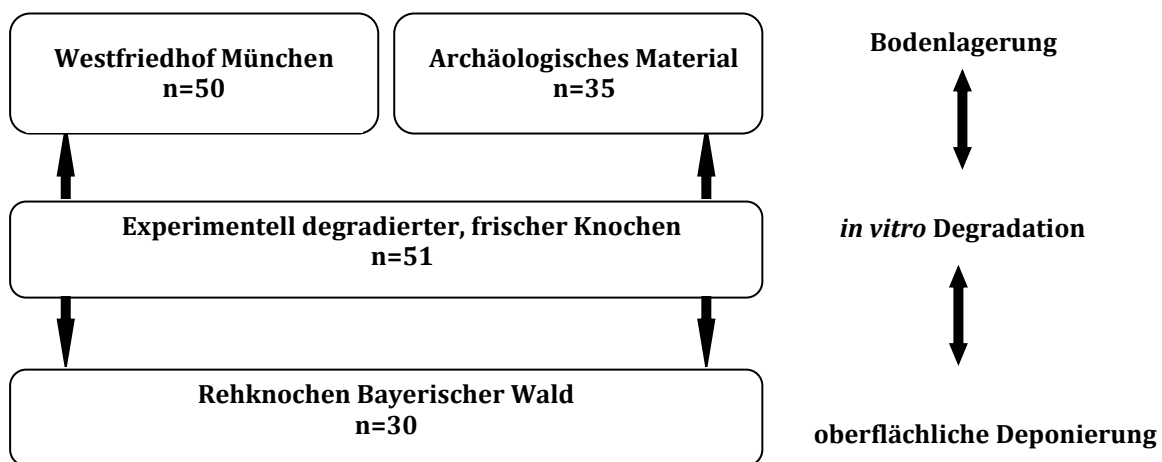


Abb. 2.1 Übersicht über die untersuchte Gesamtprobenmenge. Zu den 166 degradativ veränderten Proben kamen noch 3 frische humane Referenzknochen.

2.1 Frühdiagenetisch verändertes Knochenmaterial (Westfriedhof München)

Der 1902 eröffnete Westfriedhof im Stadtteil Moosach ist mit einer Ausdehnung von 49,75 ha und 41.700 Grabstellen einer der großen vier städtischen Friedhöfe im Münchner Stadtgebiet und zeigt ein äußerst diverses landschaftliches Erscheinungsbild (siehe Übersichtsplan Abb. 2.2).

Die Ruhezeit, welche nach der Bestattung eingehalten werden muss, bevor die Grabstätte neu vergeben werden kann, beträgt für Verstorbene ab dem 12. Lebensjahr in der Regel 10 Jahre, kann aber durch die Friedhofsverwaltung bei abweichender Bodenbeschaffenheit oder einer bestimmten Vorbehandlung der Leiche jeweils verlängert oder verkürzt werden. Generell gilt bei Einbalsamierungen von Leichen ab dem 12. Lebensjahr eine um fünf Jahre verlängerte Totenruhe (§14

der Satzung über die Bestattungseinrichtungen der Landeshauptstadt München (Friedhofsatzung)¹⁵). Ist die Ruhezeit abgelaufen und wird nicht verlängert, kann die Grabstätte zur Neu-
belegung freigegeben werden.



Abb. 2.2 Übersichtsplan des Münchner Westfriedhofs. Die Proben stammen aus verschiedenen, über die gesamte Fläche gestreuten Parzellen (verändert nach Google Maps, 2014).

Über einen Zeitraum von ca. 6 Monaten wurden mit Zustimmung der städtischen Friedhofsverwaltung München und der Verwaltung des Westfriedhofs München im Zuge der Öffnung und Neu-
belegung von Gräbern 50 Langknochenproben akquiriert. Wenn möglich, wurden aus Gründen der besseren Vergleichbarkeit Femora bevorzugt, jedoch musste in einigen Fällen ein anderer Knochen beprobt werden (insgesamt 15 Tibiae und 5 Humeri), da beide Femora im Zuge der Ex-
humierung durch schweres Gerät beschädigt wurden.

Aus jedem Grab wurden ferner eine Bodenprobe aus dem Bestattungsniveau entnommen sowie Umgebungscharakteristika wie Baumbestand oder Beschattungsgrad vermerkt. Enthielt ein Grab zwei übereinander liegende Bestattungen, wurden die Proben jeweils mit der Grabnummer und der Zusatzkennung a) (Bestattungstiefe 120 cm) bzw. b) (Bestattungstiefe 180 cm) belegt (siehe

¹⁵ Stand 31.10.2011

2. MATERIAL

Probenaufstellung im Anhang, Tabelle 8.1). Das genaue Alter der Verstorbenen, das Geschlecht und die individuelle Liegezeit, welche zwischen acht und 60 Jahren lag, konnten anhand noch vorhandener Grabsteine oder der Friedhofsbücher festgestellt werden (siehe Abb. 2.3 und Anhang Tabelle 8.1).

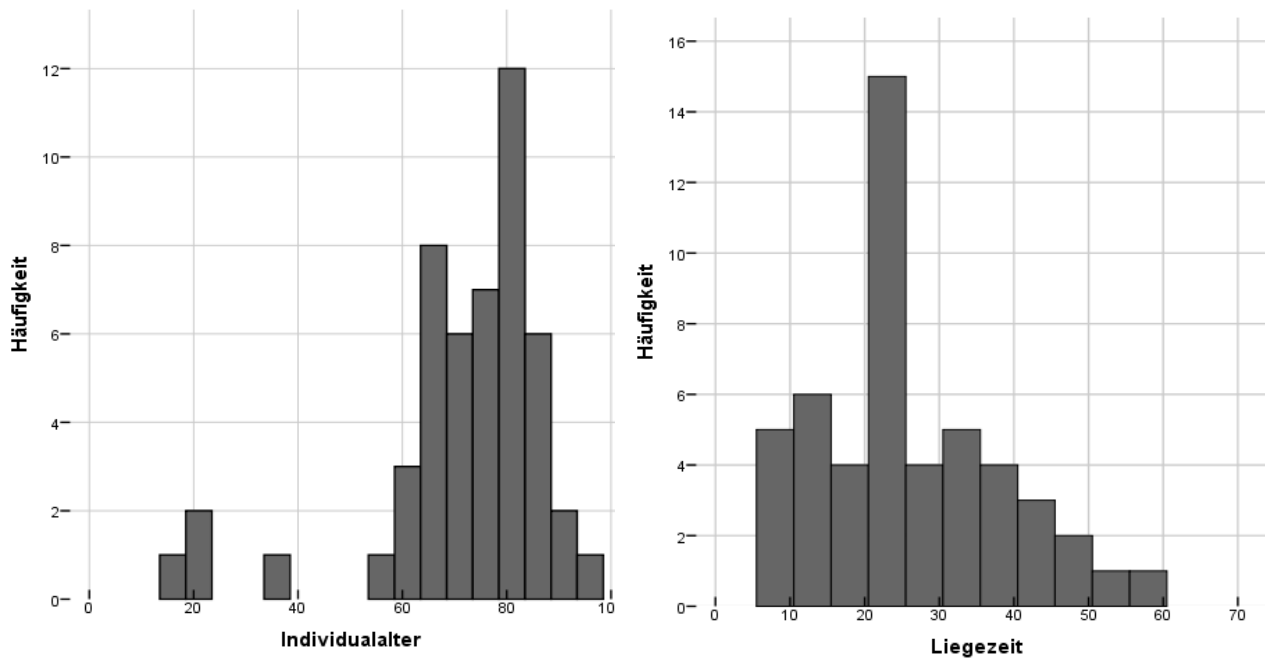


Abb. 2.3 Grafische Darstellung der Altersverteilung (16-95 Jahre; Median 76,5 Jahre) und der jeweiligen Liegezeiten (8-60 Jahre; Median 22,5 Jahre) des Probenkollektivs Westfriedhof. Das Geschlechterverhältnis war mit 56 % weiblichen zu 44 % männlichen Individuen nahezu ausgewogen.

Die Mehrzahl der Bestattungen (56 %, $n = 28$) war mit noch mehr oder weniger gut erhaltenen Särgen und textilen Resten wie der Sargauskleidung und/oder Kleidungsstücken, insbesondere Strumpfhosen aus Nylon, Hemden und Pullovern assoziiert. Individuum WF 22, welches eine ausgedehnte Teilmumifizierung des Weichgewebes zeigte, war in ein vollständig erhaltenes, schweres Tuch eingewickelt. In 38 % der Fälle ($n = 19$) waren Sarg und Bekleidung vollständig vergangen. Bei zwei Bestattungen führte die teilweise Erhaltung von verrottbarem Plastikmaterial, das eventuell der Sargauskleidung gedient hatte, zur teilweisen Konservierung von Weichgewebsresten in Form von Adipocire. WF 24 befand sich in einem gut erhaltenen Zinksarg, dessen hölzerner Innensarg ebenfalls gut konserviert war.

Die beprobten Langknochen wurden nach der Entnahme schnellstmöglich und ohne weitere Reinigung oder Vorbehandlung bei -18°C eingefroren.

Bei den irreversibel anonymisierten Knochenproben handelt es sich um menschliche Überreste, die nicht unter die Deklaration von Helsinki¹⁶ fallen und nach Anfrage bei der Ethikkommission

¹⁶ World Medical Association Declaration of Helsinki: Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects

der LMU München vom 31.03.2011 nicht zwingend ein Votum des Gremiums erfordern. Der postmortale Würdeschutz nach Art. 1, Abs. 1 des Grundgesetzes¹⁷ wurde im Umgang mit dem beschriebenen Skelettmaterial ebenso beachtet und respektiert wie bei den anderen für das Forschungsprojekt untersuchten menschlichen Knochen.

Die untersuchten Gebeine wurden nach der Beendigung des Forschungsprojekts der Friedhofsverwaltung des Westfriedhofs zur Wiederbestattung übergeben.

2.2 Archäologische Proben

Um die Resultate der frühdiagenetisch veränderten Proben in einen umfassenden taphonomischen Kontext setzen zu können, wurde auch bodengelagertes Knochenmaterial mit längeren Liegezeiten vergleichend untersucht. Es wurden insgesamt 35 Langknochenproben von zehn verschiedenen Fundorten in Deutschland analysiert, die sich hauptsächlich auf den bayerischen Raum konzentrierten (vgl. Abb. 2.4). Die Liegezeiten umfassten einen Zeitraum vom Neolithikum bis zur Neuzeit (Abb. 2.5). Da das Alter der Individuen, anders als beim Probenkollektiv Westfriedhof, nicht bekannt war, war es durch die jeweiligen Bearbeiter der Skelettserien morphologisch bzw. histologisch bestimmt worden (vgl. Anhang Tabelle 8.1). Die Alterseinteilung folgte dem Schema nach Herrmann et al. (1990):

Infans I	0-6 Jahre
Infans II	7-12 Jahre
Juvenis	13-20 Jahre
Adultas	20-40 Jahre
Maturitas	40-60 Jahre
Senilis	60- Jahre

Die folgende Vorstellung der Fundorte kann nur einen allgemeinen Überblick über die jeweiligen Grabungscharakteristika und -hintergründe wiedergeben. Für weiterführende, vertiefende Informationen muss auf die angegebene Literatur verwiesen werden.

¹⁷ Die Würde des Menschen ist unantastbar. Sie zu achten und zu schützen ist Verpflichtung aller staatlichen Gewalt.

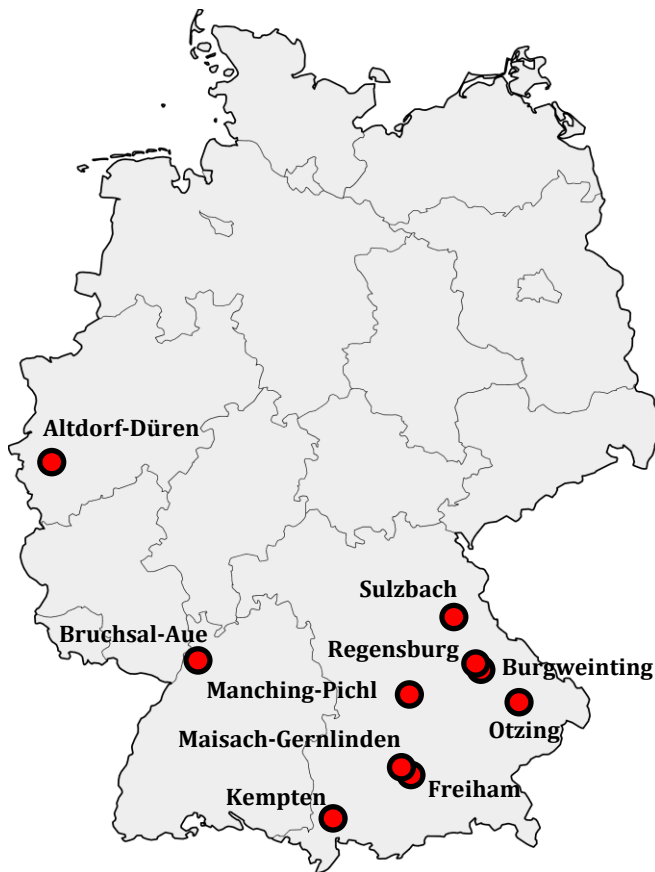


Abb. 2.4 Geographische Verteilung der zehn archäologischen Fundorte.

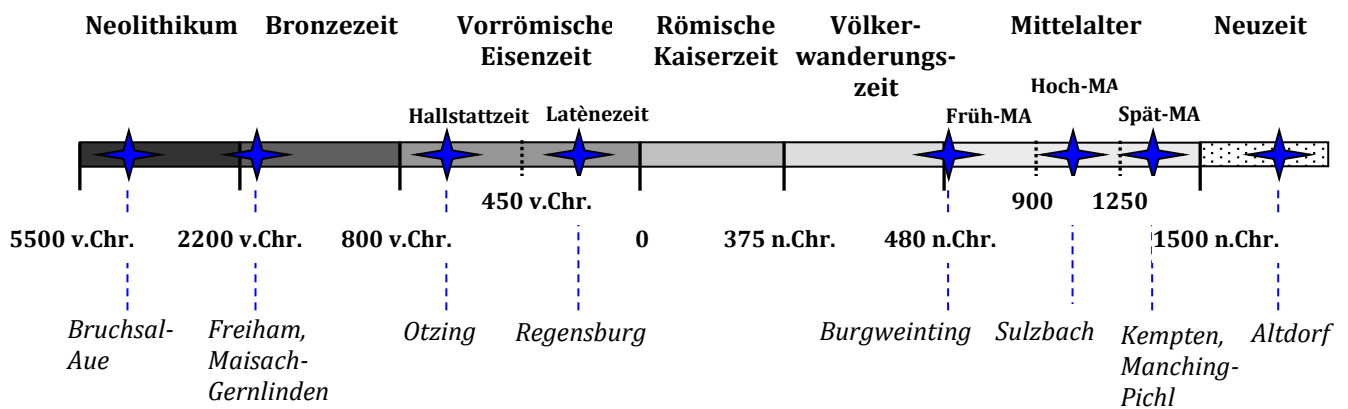


Abb. 2.5 Zeittafel für Mitteleuropa (nach Kinne 2009). Die Zeitstellung der jeweiligen archäologischen Fundkomplexe ist mit einem Stern markiert.

2.2.1 Bruchsal-Aue

Die fünf neolithischen Proben aus dem Erdwerk Bruchsal-Aue, welche der Michelsberger Kultur zugeordnet werden können, stellten mit einer Liegezeit von ca. 6000 Jahren die ältesten in der vorliegenden Arbeit untersuchten Funde (Übersicht siehe Tabelle 2.1).

Bereits im Jahr 1987 wurde unter der Federführung des Landesdenkmalamtes Baden-Württemberg mit der umfassenden Ausgrabung des Erdwerks begonnen, da dessen Erhaltung durch intensive landwirtschaftliche Nutzung sowie fortschreitende Erosion des Lössbodens gefährdet war. Detailliertere Informationen zum Erdwerk Bruchsal-Aue finden sich bei Wahl (2012) sowie Keller et al. (2015).

Von den insgesamt sieben im Areal des Erdwerks freigelegten Bestattungen wurden fünf im Rahmen der vorliegenden Arbeit auf den Erhaltungszustand der organischen und mineralischen Knochenmatrix untersucht.

Tabelle 2.1 Übersicht über das untersuchte Skelettmaterial aus dem Erdwerk Bruchsal-Aue.

Probennummer	internes Kürzel	Alter	Geschlecht	Skelettelement
Befund 162, Grab 1, Individuum 3	BrA 3	ca. 30	männlich	Femur links
Befund 162, Grab 1, Individuum 8	BrA 7	30-35	männlich	Femur links
Befund 206, Grab 3	BrA 10	ca. 40	weiblich	Femur links
Befund 204, Grab 5	BrA 11	50-60	männlich	Femur rechts
Befund 201, Grab 6	BrA 12	ca. 30	männlich	Femur rechts

2.2.2 Freiham

Im Zuge städtebaulicher Erweiterungsmaßnahmen des westlichen Stadtrands von München wurde aufgrund von Luftbildaufnahmen des zu bebauenden Areals, welche auf eine hohe Dichte archäologischer Befunde hindeuteten, vom Bayrischen Landesamt für Denkmalpflege eine Rettungsgrabung angeordnet.

Hierbei wurde neben den Resten einer Siedlung ein Gräberfeld mit 16 Bestattungen entdeckt, welche anhand ihrer Art (Flachgräber mit Hockerbestattung), Lage, Ausrichtung und Beifunde als frühbronzezeitlich angesprochen wurden.

Die Grabgruben waren jeweils mit sandig-lehmigem, fein- bis grobkiesigem Material verfüllt, welches sich deutlich von dem für die Münchner Schotterebene typischen anstehenden Kiesboden abhob (siehe Massy 2011). Für die vorliegende Arbeit wurden zwei Individuen ausgewählt (Abb. 2.6 und Tabelle 2.2), von denen noch längere Langknochenreste zur Analyse erhalten waren, welche nicht mit Konservierungsmittel behandelt worden waren.

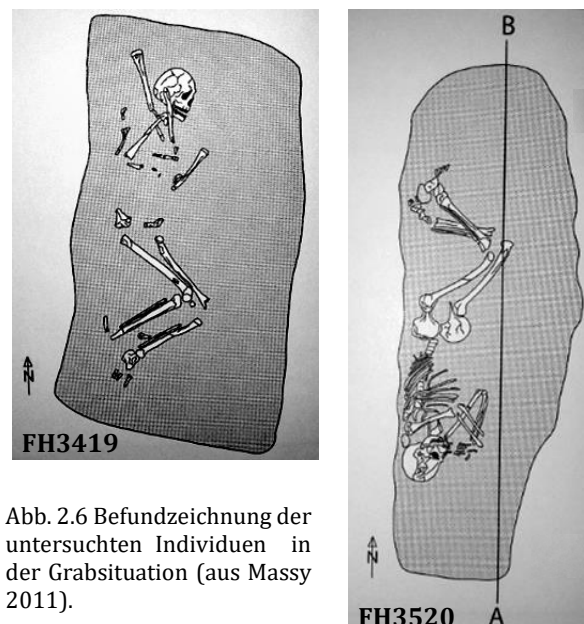


Abb. 2.6 Befundzeichnung der untersuchten Individuen in der Grabsituation (aus Massy 2011).

2. MATERIAL

Tabelle 2.2 Übersicht über die beiden untersuchten Individuen des Gräberfeldes Freiham.

Probennummer	internes Kürzel	Alter	Geschlecht	Skelettelement
Grab 8, 3520	FH3520	frühadult	weiblich	Femur links
Grab 5, 3419	FH3419	frühadult	männlich	Femur rechts

2.2.3 Maisach-Gernlinden

In der näheren Umgebung der nord-westlich von München gelegenen Ortschaft Maisach wurden seit den 30er Jahren des 20. Jahrhunderts immer wieder archäologische Funde gemacht, die eine Zeitspanne vom Neolithikum bis in die Merowingerzeit umfassten und so auf eine kontinuierliche Besiedelung des Areals von vorgeschichtlicher Zeit an hinwiesen (Massy 2011). So wurden auch die Baumaßnahmen für die im Jahr 2002 fertig gestellte südliche Umgehungsstraße des Maisacher Ortsteils Gernlinden von archäologischen Beobachtungen begleitet. Neben zahlreichen Befunden aus unterschiedlichen Zeitstellungen traten auch früh- und mittelbronzezeitliche Bestattungen in sechs verschiedenen Grabgruppen zutage (Massy 2011). Da Maisach, wie auch Freiham (siehe 2.2.2), in der durch eiszeitlichen Schotter charakterisierten Münchner Schotterebene lokalisiert ist, ist der makroskopische Erhaltungsgrad der Knochen eher schlecht, da sich die Drainagewirkung des anstehenden groben Kiesel negativ auf die Konservierung von Skelettmaterial auswirkt (siehe 1.3). Dennoch konnten zwei frühbronzezeitliche Gräber des Fundkomplexes Maisach-Gernlinden für die Untersuchung diagenetischer Prozesse analysiert werden, bei denen genug Material erhalten war, das nicht während der Bergung mit Konservierungsmitteln stabilisiert worden war (siehe Abb. 2.7 und Tabelle 2.3).

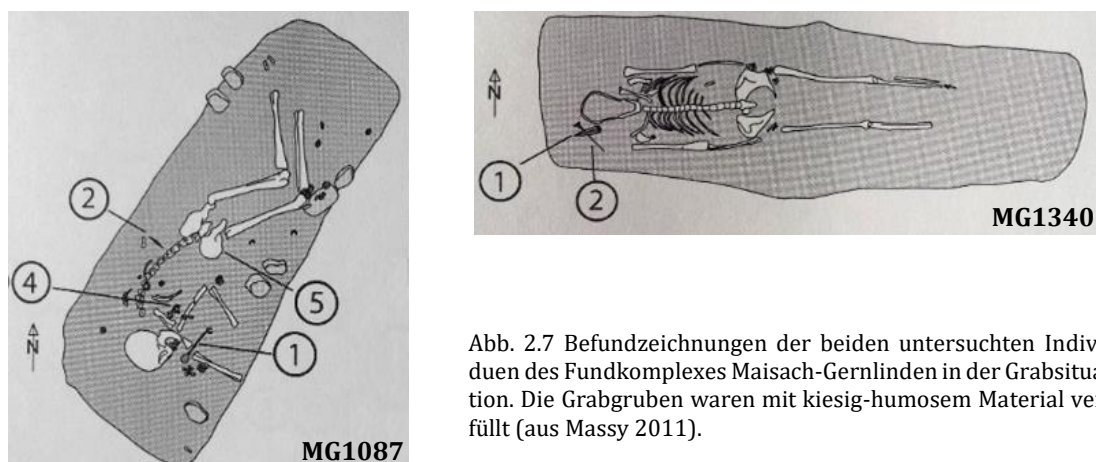


Abb. 2.7 Befundzeichnungen der beiden untersuchten Individuen des Fundkomplexes Maisach-Gernlinden in der Grabsituation. Die Grabgruben waren mit kiesig-humosem Material verfüllt (aus Massy 2011).

Tabelle 2.3 Aufstellung der analysierten Proben aus Maisach-Gernlinden.

Probennummer	internes Kürzel	Alter	Geschlecht	Skelettelement
Grab 2001/12, Bef. 1087	MG1087	frühadult	weiblich	Femur links
Grab 2001/11, Bef. 1340	MG1340	spätadult-mittelmatur	männlich	Femur links

2.2.4 Otzing

Die dem Neubau eines Sportplatzes vorangegangene Grabung auf einer bislang intensiv landwirtschaftlich genutzten Fläche im Ortsgebiet der Gemeinde Otzing, Kreis Deggendorf, im Jahr 2010 förderte neben zahlreichen jungneolithischen bis hallstattzeitlichen Funden auch ein reich ausgestattetes, hallstattzeitliches Kammergrab, welches von einem Kreisgraben mit 19 m Durchmesser und 40 cm Tiefe umgeben war, zutage. Da die Präparation des Grabplanums neben der eigentlichen Bestattung, einem eher männlichen, erwachsenen Individuum, sowie Tierknochen und Keramik auch organische Reste und bronzene Beschlagteile enthielt, die konventionell nicht zerstörungsfrei freigelegt werden konnten, wurde das gesamte Grab *en bloc* geborgen und für die weitere Präparation in die Archäologische Staatssammlung München überführt (Claßen und Schmotz 2011).

Dem bislang noch *en bloc* vorliegendem, anthropologisch unbefundetem Individuum wurde durch Dr. Michaela Harbeck eine Probe des rechten Femurs entnommen, welche anschließend auf diagenetische Veränderungen untersucht wurde.

2.2.5 Regensburg-Minoritenweg

Im Jahr 2005 sollte ein seit 1973 als Parkplatz genutztes Grundstück in der historischen Altstadt von Regensburg neu bebaut werden. Da aufgrund der Lage mit archäologischen Funden zu rechnen war, wurden die Bauarbeiten von Sondagen der zuständigen Denkmalpflege-Behörden begleitet, welche auf eine hohe Befunddichte hinwiesen und so einen vorübergehenden Baustopp bewirkten. Während der anschließend durchgeführten Flächengrabung wurden neben acht latènezeitlichen Individuen, von denen fünf in der vorliegenden Arbeit untersucht wurden (siehe Tabelle 2.4), auch zahlreiche frühneuzeitliche Bestattungen sowie mindestens 462 Individuen eines mittelalterlichen Friedhofs freigelegt. Detailliertere Informationen über die Grabung finden sich bei von Heyking (2013), die das mittelalterliche Gräberfeld im Rahmen ihrer Dissertation untersucht hat.

Tabelle 2.4 Aufstellung der fünf auf diagenetische Veränderungen untersuchten latènezeitlichen Individuen des Fundkomplexes Regensburg-Minoritenweg. MWL55 wies eine unspezifische Periostitis an der rechten Tibia auf (Befundung durch Dr. George McGlynn, Staatssammlung für Anthropologie und Paläoanatomie München).

Probennummer	internes Kürzel	Alter	Geschlecht	Skelettelement
55	MWL55	matur	männlich	Femur rechts
193	MWL193	erwachsen	eher männlich	Femur rechts
137	MWL137	adult	weiblich	Femur rechts
251	MWL251	matur	weiblich	Femur
408	MWL408	senil	männlich	Femur rechts

2.2.6 Burgweinting

Das mit einer bisher ergrabenen Fläche von 55 ha sehr große frühmittelalterliche Gräberfeld Burgweinting-Kirchfeld im Kreis Regensburg weist fünf voneinander abgegrenzte Grabgruppen auf, von welchen insbesondere eine auf 480 bis 525 n.Chr. datierte Separatgrablege mit 19 Bestattungen durch eine außergewöhnlich reiche Ausstattung der Gräber auffiel. Weiterhin konnten bei einigen dieser Bestattungen Reste von Baumsärgen nachgewiesen werden, welche im Mittelalter selten anzutreffen sind. Aufgrund dieser Tatsachen wurde angenommen, dass es sich bei den Individuen um Mitglieder einer sozial höher gestellten Bevölkerungsschicht handelte (für mehr Details siehe Codreanu-Windauer und Schleuder 2013).

Für das vorliegende Projekt wurden fünf Skelette eben dieser Separatgrablege beprobt und auf diagenetische Veränderungen untersucht (vgl. Tabelle 2.5).

Tabelle 2.5 Aufstellung der untersuchten Skelette der frühmittelalterlichen Separatgrablege im Fundkomplex Burgweinting-Kirchfeld. Individuum BW14 wies eine starke Auflagerung ungeklärter Genese an der linken Tibia auf (Codreanu-Windauer und Schleuder 2013).

Probennummer	internes Kürzel	Alter	Geschlecht	Skelettelement
3733	BW12	adult	weiblich	Femur links
3736	BW3	frühadult	männlich	Femur links
3746	BW14	matur	männlich	Femur links
3744	BW9	frühadult	weiblich	Femur rechts
3889	BW10	adult	weiblich	Femur rechts

2.2.7 Sulzbach

Während der im März 1999 durchgeführten Renovierungsarbeiten im Oberen Schlosshof der Burg Sulzbach (Landkreis Amberg-Sulzbach in der Oberpfalz) stieß man auf die Fundamente einer nördlich der Burgkirche gelegenen hochmittelalterlichen Seitenkapelle, unter welcher ein aus der Karolingerzeit stammender Adelsfriedhof zum Vorschein kam. Von den freigelegten Gräbern von vier Erwachsenen und fünf Kindern waren drei befundfrei beziehungsweise bei früheren Baumaßnahmen zerstört worden (vgl. Abb. 2.8). Für die Zeitstellung und Süddeutschland unüblich waren die gemauerten, sarkophagähnlichen Kopfnischengräber der Erwachsenen, was auf eine besondere soziale Stellung der Bestatteten hindeutete und sie als Angehörige des karolingischen Hochadels auswies. Aufgrund von Textil- und Pflanzenresten konnte rekonstruiert werden, dass die Gräber mit Stroh oder Gras ausgelegt und mit Blumen geschmückt waren. Die Toten waren in Leinenhemden oder in Leinentücher gewickelt bestattet worden. Die Seitenwände der Grabkammer waren mit Leinenstoff verkleidet und mit einer vermörtelten Holzplatte verschlossen. Eine steinerne Deckplatte an der Oberfläche markierte wohl die Position des Grabes (Hensch 2005). Aufgrund der besonderen sozialen Stellung der Bestatteten wurde der Versuch unternommen, die Identität der erwachsenen Individuen aus Grab 664 und 626 unter Berücksichtigung der Datie-

run und der Geschichte der Linie der Nordgaugrafen zu bestimmen. Genetische Analysen ergaben, dass es sich bei Grab 664 wohl um das Gründergrab des Bauherren von Burg Sulzbach, Nordgaugraf Ernst I. († 865 n.Chr.), handeln dürfte. Die weibliche Bestattung aus Grab 626 konnte nicht identifiziert werden (siehe Plötz 2011).

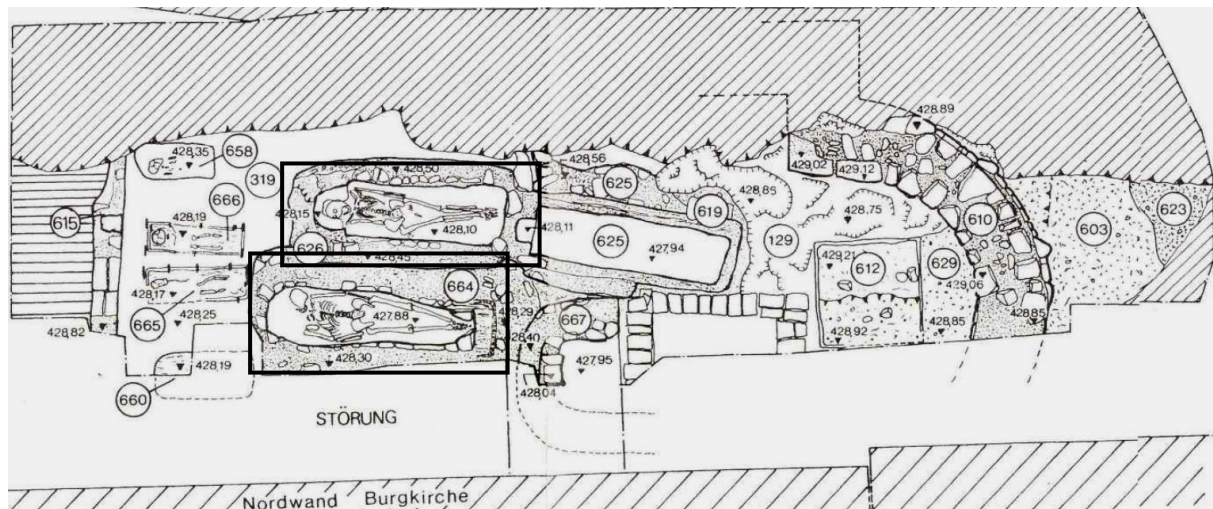


Abb. 2.8 Überblickszeichnung über die Befundsituation des Adelsfriedhofs nach den Ausgrabungen im Schlosshof der Burg Sulzbach. Die beiden in der vorliegenden Arbeit untersuchten Individuen aus den Kopfnischengräbern 664 und 626 sind hervorgehoben (nach Hensch 2005).

Für den hier untersuchten Erhaltungszustand des Skelettmaterials der beiden Individuen (siehe Tabelle 2.6) ist die Diskussion der Ergebnisse der morphologischen Befundung durch Plötz (2011) von Bedeutung, da pathologische Vorgänge für Abweichungen in der physiologischen Zusammensetzung des Knochengewebes verantwortlich sein können. So wurde bei SB 664 eine unspezifische Auflagerung auf dem rechten Femur festgestellt, sowie eine geriatrische Multimorbidität bei SB 626 (Osteoporose, Dekubitus-Läsionen nach Discusprolaps, Anzeichen für Anämie und Diabetes).

Tabelle 2.6 Auflistung der beiden in Bezug auf ihren Erhaltungszustand analysierten Hochadelsbestattungen aus Sulzbach. Die ^{14}C -Datierung ergab ein Sterbedatum von 762-894 n.Chr. für SB 664 bzw. 885-990 n.Chr. für SB 626 (Hensch 2005).

Probennummer	internes Kürzel	Alter	Geschlecht	Skelettelement
Grab 626	SB626	senilis (TCA 73 Jahre)	weiblich	Femur
Grab 664	SB664	senilis (TCA 61 Jahre)	männlich	Femur

2.2.8 Kempten

Die Pläne der Stadt Kempten (Allgäu), den Vorplatz der gotischen St. Mang Kirche in der Altstadt städtebaulich grundlegend umzugestalten, machten eine den Bauarbeiten vorangehende umfangreiche Rettungsgrabung nötig. Aus archivalischen Quellen sowie diversen Knochenfunden bei früheren Baumaßnahmen war bekannt, dass das Areal über mehrere Hundert Jahre als Friedhof genutzt wurde, welcher erst 1537 wegen

Überfüllung aufgelassen und an einen anderen Ort verlegt wurde (Sontheim 2003). Die fast 500 freigelegten Bestattungen konnten mit Hilfe von selektiven ¹⁴C-Datierungen einem Zeitrahmen von der zweiten Hälfte des siebten Jahrhunderts bis in das 12. Jahrhundert zugewiesen werden. Die ebenfalls ausgegrabenen Reste der ehemaligen Karnerkapelle St. Erasmus (siehe Abb. 2.9) wurden zu einem musealen Schauraum umgebaut, in welchem 50 der gefundenen Individuen wiederbestattet wurden. Für das vorliegende Projekt wurden fünf Bestattungen ausgewählt, welche auf diagenetische Veränderungen der Knochenmatrix untersucht wurden (vgl. Tabelle 2.7). Dabei zeigten drei der Individuen Anzeichen von Trauma (KE 174: verheiltes Trauma Metacarpus)

bzw. pathologische Veränderungen (KE 145: Osteomyelitis mit Kloakenbildung Femur links, Periostitis Becken; KE 161: Cribra orbitalia). Morphologisch befundet wurden die Individuen von Jessica Semmlinger im Rahmen eines Forschungspraktikums an der Staatssammlung für Anthropologie und Paläoanatomie München (Daten unveröffentlicht).

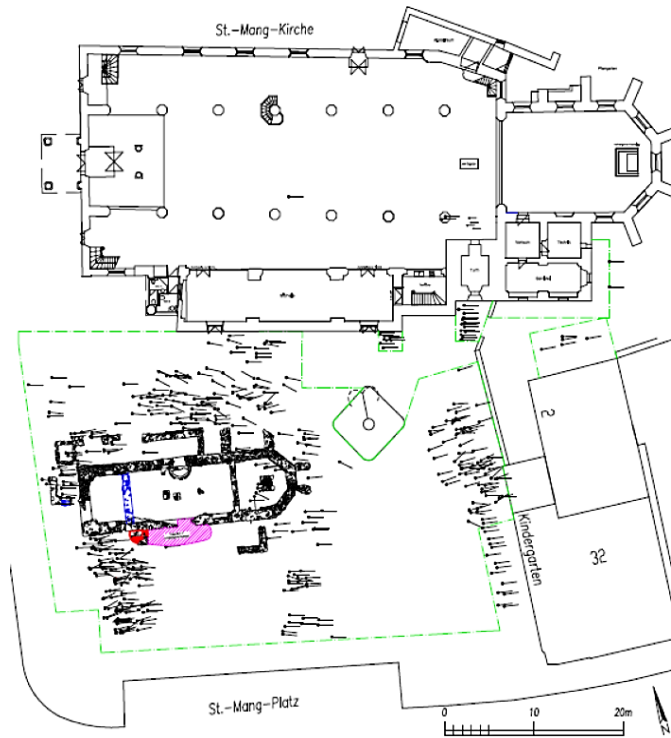


Abb. 2.9 Übersicht über das Grabungsareal „St. Mang-Platz“. In der Mitte sind die Umrisse der ehemaligen Karnerkapelle St. Erasmus zu erkennen (aus Weinhardt 2010).

Tabelle 2.7 Aufstellung der untersuchten spätmittelalterlichen Individuen vom St. Mang-Platz Kempten.

Probennummer	internes Kürzel	Alter	Geschlecht	Skelettelement
145	KE145	matur	männlich	Femur rechts
150	KE150	adult	weiblich	Femur rechts
161	KE161	juvenil (16-18)	weiblich	Femur rechts
174	KE174	adult	männlich	Femur rechts
192	KE192	adult	weiblich	Femur rechts

2.2.9 Manching-Pichl

Im Zuge von Renovierungsarbeiten in der katholischen Kirche St. Leonhard im Ortsteil Pichl der bayerischen Ortschaft Manching im Jahr 1984 wurde unter der Sakristei ein Massengrab mit 75 menschlichen Skeletten, welche in vier Lagen übereinander geschichtet waren, entdeckt. Aufgrund der Anlage des Massengrabes, welche auf einen zeitlich nah beieinander liegenden Tod der Individuen schließen lässt, sowie der zeitlichen Einordnung in das Spätmittelalter wurde vermutet, dass die Verstorbenen Opfer des „Schwarzen Todes“ geworden sind. Molekularbiologische Analysen, bei denen DNA des Pesterregers *Yersinia pestis* in den Hartgeweben einiger Individuen nachgewiesen werden konnte, bestätigten diesen Verdacht (Wiechmann et al. 2010, Seifert et al. 2013). Drei Individuen aus dem Massengrab (Tabelle 2.8) wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit auf den Erhaltungszustand der organischen und anorganischen Knochenkomponenten hin analysiert.

Tabelle 2.8 Übersicht über die untersuchten Individuen aus dem Massengrab unter der Sakristei der Kirche St. Leonhard, Manching-Pichl.

Probennummer	internes Kürzel	Alter	Geschlecht	Skelettelement
54-II	MP54	spätadult	weiblich	Femur rechts
59-I	MP59	frühmatur	weiblich	Humerus rechts
68-I	MP68	frühmatur	weiblich	Femur rechts

2.2.10 Altdorf-Düren

Die niederrheinische Bucht im südlichen Nordrhein-Westfalen ist geprägt durch fruchtbare Lössböden und ausgedehnte Braunkohleflöze, welche intensiv bergbaulich genutzt werden.

Im Zuge einer großangelegten Umsiedelungsaktion durch die RWE Power AG zur Erweiterung des Braunkohletagebau-Gebiets Inden, Kreis Düren (Nordrhein-Westfalen), wurde die Ortschaft Altdorf an ihrem ursprünglichen Standort komplett abgebrochen und etwa 3,5 km südlich, zusammen mit der ebenfalls umgesiedelten Ortschaft Inden, als neue Ansiedlung Inden/Altdorf wieder aufgebaut. Im Jahr 2006 wurde im Kirchhof der abgerissenen neoromanischen Backsteinkirche St. Pankratius in einer großangelegten Grabungskampagne der ehemalige Friedhof des Ortes auf einer Fläche von über 300 m² ausgegraben. Während die jüngsten, im 20. Jahrhundert angelegten Bestattungen auf den neu gestalteten Friedhof der Gemeinde Inden/Altdorf überführt wurden, überstellte man die über 240 Skelette umfassenden älteren Funde, welche bis ins das Spätmittelalter zurückdatieren, an die Staatssammlung für Anthropologie und Paläoanatomie München, wo sie im Rahmen einer Dissertation (Grigat 2014) anthropologisch untersucht wurden. Fünf Individuen dieser Serie, die zwischen 1886 und 1920 bestattet wurden (Aufstellung Tabelle 2.9), wurden für die vorliegende Arbeit zur Verfügung gestellt und hinsichtlich diagenetischer Veränderungen des Knochengewebes analysiert.

2. MATERIAL

Tabelle 2.9 Übersicht über die in der vorliegenden Arbeit analysierten Proben der Skelettserie aus Altdorf.

Probennummer	internes Kürzel	Alter	Geschlecht	Skelettelement
Grab 1a	Alt1	adult (25-35)	weiblich	Tibia
Grab 64	Alt64	senil	männlich	Femur
Grab 96	Alt96	adult (25-35)	weiblich	Femur
Grab 220	Alt220	senil (70-x)	männlich	Femur
Grab 240	Alt240	adult-matur (35-45)	eher weiblich	Femur

2.3 Rezent Material humaner Gewebespende

Die rezenten menschlichen Femurdiaphysen, welche die Grundlage für die Degradationsexperimente bildeten, wurde vom Institut für Rechtsmedizin der LMU München zur Verfügung gestellt und stammen von drei Verstorbenen, die einer postmortalen Gewebeentnahme für wissenschaftliche Zwecke zugestimmt hatten. In Koordination mit dem verantwortlichen Arzt für Gewebespenden, Dr. Christian Braun, wurden im Vorfeld einige Anforderungen an die Proben formuliert. So sollten die Patienten an keinen offenkundigen Krankheiten leiden, die Auswirkungen auf den Stoffwechsel haben könnten, es sollten verschiedene Altersklassen vertreten sein, und das postmortale Intervall vor der Entnahme der Proben sollte eine Woche nicht übersteigen, um potentielle Dekompositionseffekte zu minimieren.

Tabelle 2.10 Geschlecht und Individualalter der Spender, welchen jeweils ein Stück der Femurdiaphyse entnommen wurde.

Probennummer	Alter	Geschlecht	Gesamtprobenlänge
Femur 1	36	männlich	19,5 cm
Femur 2	58	männlich	22 cm
Femur 3	72	männlich	19,5 cm

Die Patienten wurden während der Sektion auf offene Tuberkulose und andere infektiöse Krankheiten untersucht sowie anschließend serologisch auf Hepatitis und HIV getestet, um eine Ansteckungsgefährdung während der weiteren Probenbearbeitung auszuschließen. Die Spender wurden anonymisiert, lediglich Geschlecht und Sterbealter sind bekannt (Tabelle 2.10).

2.4 Rezente Rehknochen

Dem bodengelagerten und dem experimentell degradiertem humanen Knochenmaterial wurden die rezenten, nicht bestatteten Rehknochen als indirektes Vergleichskollektiv gegenübergestellt. Ziel war es zu untersuchen, ob und in wie weit biostratonomische Mechanismen nach sehr kurzem postmortalen Intervall bereits Einfluss auf die makro- und mikrostrukturelle beziehungsweise biomolekulare Integrität des Knochengewebes haben und inwieweit die gewonnenen Erkenntniss mit den anderen untersuchten Kollektiven vergleichbar sind.

Im Rahmen einer Studie des Forstzoologischen Instituts der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg wurden im Jahr 2011 14 Rehkadaver (*Capreolus capreolus*) auf dem Gelände des Nationalparks Bayerischer Wald ausgelegt, um die Rolle von Luchsrissen für das Ökosystem des Waldes sowie die entomologische Besiedlung der Kadaver zu untersuchen (Fiderer 2011).

Durch die freundliche Vermittlung von Herrn Prof. Dr. Dr. Peters vom Institut für Paläoanatomie und Geschichte der Tiermedizin, LMU München, konnten in Kooperation mit der Nationalparkverwaltung, Christian Fiderer von der Universität Freiburg, dem Bayerischen Landeskriminalamt München sowie der Zoologischen Staatssammlung München Proben von den Rehkadavern genommen und auf dekompositionelle Veränderungen hin untersucht werden.

Bei den für den Versuch verwendeten Tieren handelte es sich um verunfallte beziehungsweise eigens für das Projekt erlegte Stücke aus der Umgebung des Nationalparks (für Details siehe Tabelle 2.11).

Die Kadaver wurden bis zur Auslegung bei -10°C in einem Kühlraum eingefroren aufbewahrt und zehn der 14 Tiere schließlich am 16.05.2011 (Reh 1-5) und 06.06.2011 (Reh 6-10) an vorher festgelegten Standorten im Nationalpark, welche sich auf einer Höhe zwischen 700 und 900 m ü. NN befanden, deponiert (Abb. 2.10). Die fotografische Dokumentation der Auslegungsorte, bei denen es sich hauptsächlich um lichten Wald und feuchte Totholzareale handelte, findet sich bei Fiderer (2011). Zur Simulation eines Luchsrisses wurde den Tieren jeweils einseitig die Oberschenkelmuskulatur angeschnitten und das Fell lokal entfernt, bevor der Körper teilweise locker mit Laub bedeckt wurde. Um eine Verschleppung der Kadaver durch Aasfresser so lange wie möglich zu verhindern, wurden die Rehe mit U-förmigen Stahllankern am Waldboden fixiert (Abb. 2.11). Eine Wildkamera dokumentierte die Nutzung des Kadavers durch Aasfresser (vgl. Tabelle 2.11).

Den frischen Kadavern wurde unmittelbar nach der Auslegung mittels einer Handsäge jeweils ein Metatarsus als Referenzprobe entnommen. Nach 72 bzw. 51 Tagen (Reh 1-5 bzw. Reh 6-10) sowie 178 bzw. 157 Tagen (Reh 1-5 bzw. Reh 6-10) wurden die Auslegungsstandorte erneut beprobt, wobei aus Gründen der besseren Vergleichbarkeit der Ergebnisse versucht wurde, erneut einen Metatarsus oder Metacarpus zu sichern.

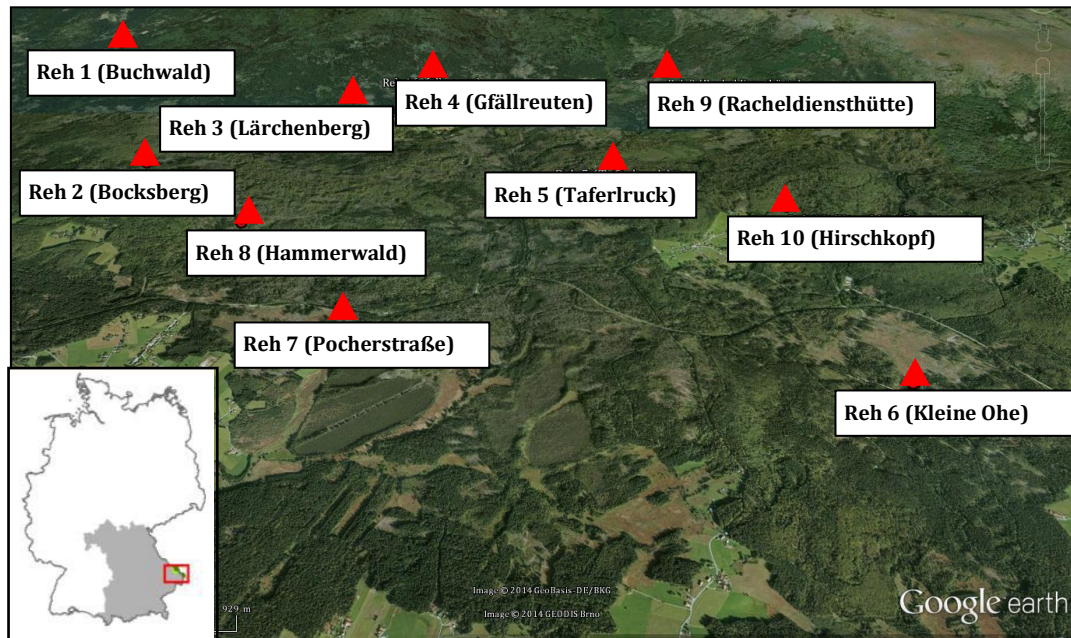


Abb. 2.10 Auslegungsstandorte der 10 untersuchten Rehkadaver im Nationalpark Bayerischer Wald (Karte verändert nach Google Earth 2014).

Jedoch erschwerte die teilweise erhebliche räumliche Zerstreuung der Skelettelemente, besonders während des zweiten Beprobungsintervalls, die Probennahme, so dass in zehn von 30 Fällen kein entsprechender Mittelhand-/ Mittelfußknochen mehr aufgefunden werden konnte. Hier wurde auf einen anderen Langknochen ausgewichen (siehe Übersichtstabelle 2.11). An drei Standorten (Reh 4, Reh 6, Reh 10) wäre nach dem zweiten Beprobungsintervall keine weitere Probennahme möglich gewesen, da dort außer wenigen Fragmenten von Wirbeln und Rippen kein weiteres Skelettmaterial mehr auffindbar war. Da auch die restlichen Standorte erkennen ließen, dass ein weiteres Beprobungsintervall wenig erfolgversprechend sein würde, wurde der Versuch an dieser Stelle abgebrochen.

Der Nationalpark verfügt über eine eigene Wetterstation, welche sich in der Nähe des Versuchsgebiets befindet (940 m ü. NN)¹⁸. Daher waren sowohl die Temperaturdaten als auch Aufzeichnungen über die Niederschlagsmenge über den Versuchszeitraum verfügbar.



Abb. 2.11 Auslegung der Rehkadaver als Simulation eines Luchsrisses (Anschnitten der Keule und Verblendung mit Laub). Um ein rasches Verschleppen durch Aasfresser zu verhindern, wurden die Körper mit Stahlankern am Waldboden fixiert.

¹⁸ Wetterstation Waldhäuser

Tablle 2.11 Übersicht über die Proben des Taphonomieversuchs im Nationalpark Bayerischer Wald.

Individuum	Ablage	Standort	Geschl.	Gew. [kg]	Fellbeschaffenheit	Tod	Traumata	Tiere am Kadaver	Knochen frisch	Knochen 27.07.11	Knochen 10.11.11
1	16.05.11	Buchwald (13° 21' 6.85" E 48° 57' 30.63" N)	♂ (jung)	22,45	Fellwechsel (Reste Winterdecke)	Unfall	Ruptur der Bauchdecke; Fraktur Humerus und Femur li; mutmaßlich Schädelbasisbruch; teilweise großflächige, multiple Thoraxruptur; Fraktur/Luxation Hüftgelenk re.	Fuchs, Misteldrossel	Metatarsus li.	Tibia li.	Femur re.
2	16.05.11	Bocksberg (13° 22' 16.79" E 48° 56' 5.62" N)	♂ (jung)	19,20	Winterdecke	Erlegt	Schuss auf li. Schulter (Knochen-treffer mit Geschosserlegung), handtellergroßer Ausschuss unterhalb des Sternums mit Eröffnung der Bauchhöhle	Hund	Metatarsus re.	Metacarpus re.	Metacarpus li.
3	16.05.11	Lärchenberg (13° 23' 25.74" E 48° 56' 46.56" N)	♂ (alt)	30,8	Fellwechsel (Reste Winterdecke)	Unfall	Linke Stange abgebrochen, sonst keine äußeren Verletzungen	-	Metatarsus li.	Humerus re.	Radius/Ulna re.
4	16.05.11	Gfällreuten (13° 23' 58.23" E 48° 57' 5.60" N)	♀	20,20	Winterdecke	Unfall	Mandibula fehlt; Genickbruch	Fuchs, Singvögel	Metatarsus re.	Metacarpus re.	Tibia li.
5	16.05.11	Taferlruck (13° 25' 24.61" E 48° 56' 8.85" N)	♀	25,10	Winterdecke (beginnender Fellw.)	Unfall	Fraktur Tibia links (Geschosssplitter); Kopfverletzung	Fuchs, Schwarzwild, Singvögel	Metatarsus li.	Metatarsus re.	Humerus re.
6	06.06.11	Kleine Ohe (13° 26' 48.91" E 48° 54' 53.01" N)	♂	20,60	?	Erlegt	Verletzung im Bauchraum	Schwarzwild, Fuchs	Metatarsus re.	Humerus re.	Radius re.
7	06.06.11	Pocherstraße (13° 23' 57.85" E 48° 55' 6.46" N)	♂	22,60	Winterdecke	Unfall	Kopf fehlt	Kolkrabe, Fuchs, Hund	Metatarsus li.	Metatarsus li.	Tibia re. (dist. Ende fehlt)
8	06.06.11	Hammerwald (13° 23' 10.08" E 48° 55' 37.79" N)	♂ (jung)	17,20	?	Erlegt	Ruptur der Bauchdecke; Fraktur Tibia rechts	Mäusebussard, Fuchs, Luchs	Metatarsus re.	Metacarpus li.	Metacarpus re.
9	06.06.11	Racheldiensthütte (13° 25' 47.57" E 48° 57' 13.00" N)	♂	25,30	Winterdecke	Unfall	Keine äußeren Verletzungen	Mäusebussard, Dachs	Metatarsus re.	Metatarsus li.	Metacarpus li.
10	06.06.11	Hirschkopf (13° 26' 26.07" E 48° 55' 52.87" N)	♂ (jung)	17,40	Winterdecke	Erlegt	Schussverletzung Thorax	Mäusebussard, Fuchs	Metatarsus li.	Metatarsus re.	Tibiafragmente

2. MATERIAL

Der Sommer war ungewöhnlich kühl, und die durchschnittliche Tagestemperatur für den Zeitraum der Auslegung der Kadaver (Mai/Juni) lag mit lediglich 12,6°C unter dem seit Beginn der lokalen Wetteraufzeichnungen im Jahr 1972 ermittelten Durchschnitt. Auch die Niederschlagsmengen fielen mit insgesamt nur 3,5 mm für Mai/Juni sehr gering aus (Angaben nach Nationalparkverwaltung Bayerischer Wald). Abb. 2.12 zeigt den durchschnittlichen Tagestemperaturverlauf sowie die Intensität der Niederschläge während des Auslegungszeitraums und der frühen Dekompositionsphasen der Kadaver.

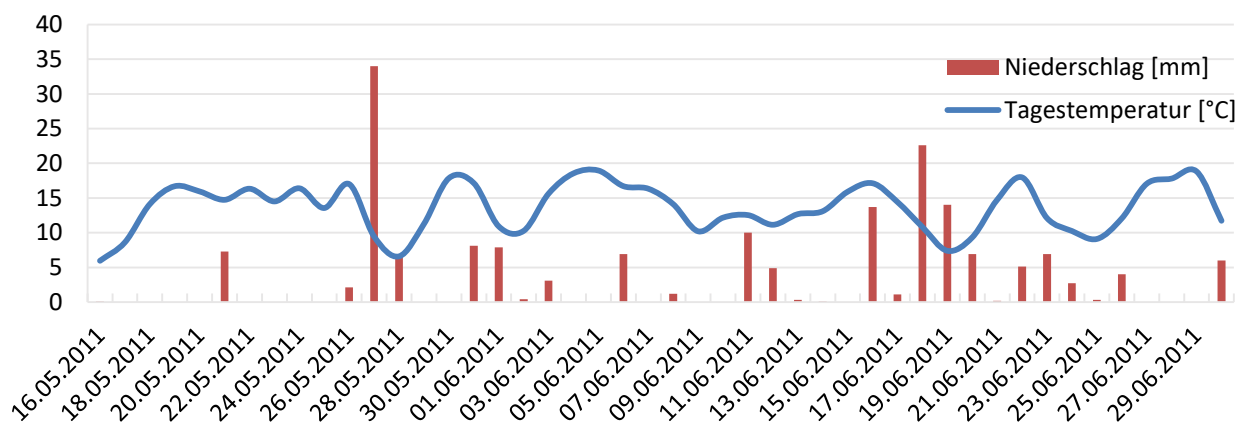


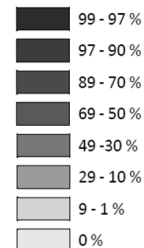
Abb. 2.12 An der Wetterstation Waldhäuser erfasste durchschnittliche Tagestemperatur sowie gemessene Niederschlagsmenge während des initialen Dekompositionszeitraums der im Nationalpark ausgelegten Rehkadaver (nach Daten der Nationalparkverwaltung Bayerischer Wald).

Trotz der kühlen Umgebungstemperaturen war nach zwei bis spätestens drei Wochen das Weichgewebe an allen Standorten vollständig vergangen und die Skelettierung abgeschlossen (Abb. 2.13; für mehr Details siehe Fiderer 2011). Die teilweise erhebliche räumliche Zerstreuung der Überreste war auf die Aktivität aasverwertender Wirbeltiere zurückzuführen, welche typischerweise nicht nur das Fleisch eines Kadavers, sondern auch die Knochen nutzen.

Alle aquirierten Knochen wurden nach der Entnahme schnellstmöglich eingefroren und bis zur weiteren Bearbeitung bei -18°C gelagert, wobei die frischen Proben zunächst mechanisch von Fell und Weichgewebe befreit wurden.

Abb. 2.13 Von Fiderer (2011) protokollierter Fleischverlust der Rehkadaver. Nach zwei bis drei Wochen war das Weichgewebe an allen Skeletten so gut wie vollständig vergangen.

Standort	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Tag										
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
2	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1
3	1	1	1	1	1	1	2	2	2	1
4	3	1	2	1	2	2	2	2	2	1
5	3	2	3	2	2	2	2	2	3	1
6	4	2	3	2	2	2	2	3	3	1
7	4	2	3	2	2	3	3	3	5	2
8	4	3	3	2	2	3	5	4	6	3
9	5	3	4	3	4	4	6	5	7	3
10	5	4	5	4	5	4	7	6	8	4
11	5	5	6	6	6	8	7	6	8	4
12	6	6	6	7	7	8	8	7	8	4
13	7	7	7	8	7	8	8	7	8	4
14	7	8	8	8	8	8	8	7	8	5
15	8	8	8	8	8	8	8	8	8	5
16	8	8	8	8	8	8	8	8	8	6
17	8	8	8	8	8	8	8	8	8	7
18	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8



3. Methoden

Postmortaler Knochenabbau ist ein komplexer und vielschichtiger Prozess, für dessen Verständnis alle Einzelkomponenten des Gewebes in die Untersuchung mit einbezogen werden müssen. Aufgrund des engen Zusammenhangs zwischen anorganischer und organischer Knochenmatrix liegt es nahe, dass dekompositionelle Veränderungen der einen Komponente auch die andere beeinflussen (siehe 1.2.1.3).

In der vorliegenden Arbeit kam folglich ein umfassendes methodisches Spektrum zum Einsatz, das sich zum einen an biologischen Versuchsansätzen orientierte, um den Erhaltungsgrad des Knochenkollagens zu untersuchen, zum anderen aber auch materialwissenschaftliche Anwendungen umfasste, um die mineralische Matrix zu charakterisieren.

3.1 Qualitative Bodenanalyse

Im Kontext forensischer Fragestellungen werden Erdproben routinemäßig nach nationalen und internationalen Standards reproduzierbar untersucht und klassifiziert, da eine rein subjektive Wiedergabe der Bodenfarbe und –beschaffenheit keine einheitlichen Maßstäbe erlaubt. Laut USDA¹⁹ lassen sich alleine in den USA aufgrund der Interaktionsmöglichkeiten der fünf bodenbildenden Faktoren (Mutterboden, Klima, Topographie, besiedelnde Organismen, Zeit) 50.000 verschiedene Bodentypen unterscheiden. Da pedologische Fachtermini für Laien oft schwer interpretierbar sind, wurde ein Leitfaden für forensische Anwendungen entwickelt, welcher es erlaubt, auch ähnlich erscheinende Bodentypen exakt und eindeutig zu unterscheiden (siehe Fitzpatrick 2008). Die verwendeten Verfahren sind dabei deskriptiver Natur und lassen sich ohne den teils hohen Aufwand analytischer Methoden durchführen.

Für das Probenkollektiv „Westfriedhof München“ wurde aus jedem Grab eine Erdprobe aus dem unmittelbaren Bestattungsbereich (Grabtiefe 120 cm bzw. 180 cm) entnommen und in 10 ml

¹⁹ United States Department of Agriculture

3. METHODEN

Schnappdeckelgläser (Roth) überführt. Somit wurde der Austrocknung der Probe vor der Analyse im Labor entgegengewirkt.

Abbildung 3.1 zeigt eine Übersicht über die einzelnen Schritte bei der Charakterisierung einer Bodenprobe sowie die Art der zu erwartenden Ergebnisse. Die exakte Klassifizierung aller untersuchten Erdproben findet sich im Anhang in Tabelle 8.2.

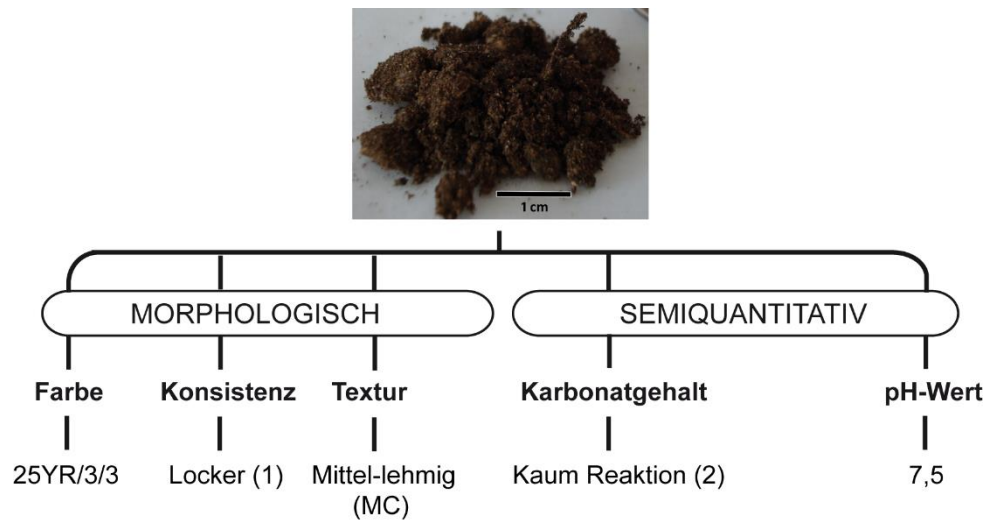


Abb. 3.1 Schematische Vorgehensweise bei der Analyse von Bodenproben mit beispielhaftem Ergebnis. Zusammenstellung nach Fitzpatrick (2008).

3.1.1 Morphologische Methoden

3.1.1.1 Bestimmung der Bodenfarbe

Die Farbe des Bodens ist ein wichtiger Indikator für den Redoxstatus und zeigt damit dessen Durchlüftung und den Gehalt an organischer Substanz an (Fitzpatrick et al. 1999), was einen entscheidenden Einfluss auf die Dekompositionsrate eines beerdigten Körpers hat (siehe 1.3.3.1)²⁰. Charakterisiert wird die Färbung eines Bodens anhand spezieller Farbtafeln, welche die zu erwartenden Farben für Böden durch die eindeutige Zuweisung von Farbton, Helligkeit und Sättigung reproduzierbar darstellen (Munsell Soil-Color Charts 2009, siehe Anhang a, Abb. 8.1). Die individuelle Farbe der Erdproben vom Westfriedhof wurde im bodenfeuchten Zustand durch Vergleich mit den Munsell Farbkarten bestimmt.

²⁰ Die Farbgebung ist abhängig von der Art und Menge der im Boden enthaltenen Eisenoxide sowie der Präsenz organischer Bestandteile (Schulze et al. 1993). So zeigen rote und gelbe Farbtöne in hoher Sättigung oxidierende Bodenbedingungen an, während reduzierende Böden, also auch nasse und aquatische Verhältnisse, dunkelgrau bis bläulich in niedriger Sättigung erscheinen. Eine Mischform aus hellroten oder gelben Böden, welche eine dunkelgraue Marmorierung aufweisen, entsteht bei periodischer Wassersättigung (USDA 1998).

3.1.1.2 Konsistenz

Die Konsistenz der Erdproben wurde nach den Vorgaben aus Tabelle 8.12 im Anhang bestimmt, indem ein ca. 1,5 x 1,5 cm großer Klumpen zwischen Daumen und Zeigefinger zerdrückt wurde²¹.

3.1.1.3 Textur

Zur Ermittlung der Textur wurde eine etwa walnussgroße Menge jeder Erdprobe sukzessive mit Wasser angefeuchtet und mit den Fingern homogenisiert, bis die Erde an den Fingern klebte. Dies entspricht der Feldkapazität der Wasserspeicherung. Die Probe wurde dann so lange weiter befeuchtet, bis kein weiteres Wasser mehr aufgenommen wurde. Anschließend wurde versucht, den so gesättigten Erdklumpen zwischen Daumen und Zeigefinger durch Scherung zu einem Band zu formen. Die Länge des so gewonnenen Bandes und die Eigenschaften des befeuchteten Bodens charakterisierten die Textur (nach Fitzpatrick 2008, siehe Tabelle 8.13 im Anhang)²².

3.1.2 Semiquantitative Methoden

3.1.2.1 Bestimmung des Carbonatgehalts

Ein Teil der zu testenden Erde wurde auf eine Tüpfelplatte gegeben, größere Steine wurden aussortiert. Auf jede Probe wurden 2-3 Tropfen 1M HCl (Roth) aufgeträufelt. Die Stärke der Gasentwicklung, welche sich als mehr oder weniger intensives Schäumen der Probe zeigte, wurde nach ihrer beobachteten Intensität in 4 Stufen eingeteilt (siehe Tabelle 3.1).

Tabelle 3.1 Semiquantitative Bestimmung des Carbonatgehalts der Erdproben nach dem Bläschenbildungstest (Fizz Test, Schoeneberger et al. 2002).

Einstufung	Bläschenbildung nach Säurezugabe	Schätzung des Calciumcarbonatgehalts
1	Keine Reaktion	Kein CaCO ₃
2	Kaum Reaktion	Geringer Gehalt
3	Deutliche Reaktion	Mittlerer Gehalt
4	Starke Reaktion	Hoher Gehalt

²¹ Die Konsistenz eines Bodens beschreibt dessen Festigkeit bzw. Bindigkeit und beeinflusst damit besonders die allgemeine Wasserrückhaltekapazität und damit auch den Durchlüftungsgrad. Ob die Beschaffenheit des Bodens locker, weich, fest, sehr hart oder felsig ist (USDA 1993), hängt von verschiedenen Faktoren, wie der Textur (siehe Punkt 3.1.1.3), der mechanischen Verdichtung, dem Anteil organischer Substanzen, der Präsenz natürlicher Zementierungsmittel sowie dem totalen Wassergehalt ab (Fitzpatrick 2008).

²² Auch die Textur des Bodens, welche maßgeblich für die Konsistenz verantwortlich ist, ist ein Indikator für die Wasserrückhaltekapazität bzw. -durchlässigkeit. Sie spiegelt den Gesamtanteil an Sand, Schluff und Tonelementen wider und ist damit ein Parameter für die Rückhaltefähigkeit von Nährstoffen und die Auslaugungsneigung des Bodens. So leitet grober Sand Wasser schnell ab und kann Nährstoffe nur in geringem Maße zurückhalten, während tonhaltiges Sediment schlecht entwässert und Nährstoffe anreichern kann. Weiterhin gibt die Textur Auskunft über die Erodierbarkeit und Verdichtung von Böden (Fitzpatrick 2008).

3. METHODEN

Da die Abspaltung von CO_2 aus dem Carbonat in einer zeitlich verzögerten Reaktion ablaufen kann, wurde nach dem Auftropfen der Säure einige Sekunden gewartet, bevor die Bläschenbildung aus der Erdprobe endgültig bewertet wurde²³.

3.1.2.2 Ermittlung des pH-Werts des Bodens

Die Messung des pH-Wertes der Erdproben aus den Gräbern des Münchner Westfriedhofes wurde an luftgetrocknetem Material nach der Methode von Jackson (1958) durchgeführt. Hierzu wurde jede Probe in ein Becherglas gegeben und sukzessive und ohne Umrühren mit deionisiertem Wasser aus einer Spritzflasche benetzt, bis die Probenoberfläche leicht nass glitzerte. Tropfenweise wurde nun mehr Wasser zugegeben und mit einem Glasstab umgerührt, bis die Probe eine pastenartige Konsistenz hatte und der maximale Sättigungsgehalt erreicht war. Der pH-Wert wurde nun sofort mittels eines pH-Testgeräts (Hanna Instruments) gemessen, um potenzielle Veränderungen des pH-Werts durch die Umgebungsluft auszuschließen.

3.2 Entfettung der rezenten Proben

Da das rezente Probenmaterial zum Teil noch stark fetthaltig war bzw. Anhaftungen von Fettwachs aufwies, mussten die Knochen vor der weiteren Bearbeitung entfettet werden. Rückstände von Fett können sowohl die Probenpräparation erschweren als auch die Analyse stabiler Isotope von Kohlenstoff beeinflussen (z.B. Lidén et al. 1995). Somit wurden die Knochen des Probenkollektivs „Westfriedhof“, die bakteriell degradierten frischen humanen Femora und die Rehknochen des Taphonomieversuchs aus dem Nationalpark Bayerischer Wald nach dem Soxhlet-Extraktionsverfahren entfettet. Die Knochen für die experimentelle chemische Degradation wurden im Zuge der Vorbereitung nach einer anderen Methodik entfettet (siehe Punkt 3.4.1).

Vor der Entfettungsprozedur wurden die einzelnen Proben mit Hilfe von Wollfäden individuell markiert und in den Soxhlet-Extraktor gegeben. Die Apparatur, bestehend aus einem mit dem Lösungsmittel Diethylether (Roth) und Watte gefülltem 250ml Rundkolben, dem Extraktionskolben und einem Dimroth-Kühler (alle Schott Duran), wurde zusammengebaut und in eine Heizhaube gestellt. Entfettet wurde auf niedrigster Heizstufe über ca. 5 Tage, je nach Größe der Proben und Fettgehalt.

²³ Neben im Grundwasser gelösten Hydrogencarbonat-Ionen finden sich im Boden verschiedene Carbonatverbindungen, die als Feststoff vorliegen. Meist handelt es sich dabei um Calcite (CaCO_3) und Dolomite ($\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$) (Doner und Lynn 1989). Da Carbonate unter Zugabe von Säure nach dem Reaktionsprinzip: $\text{CaCO}_3 + 2\text{HCl} = \text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2 + \text{Ca}^{2+} + 2\text{Cl}^-$ Kohlendioxid abgeben, lassen sie sich einfach anhand des Bläschenbildungstests in Bodenproben nachweisen.

3.3 Knochenhistologie

Die histologische Untersuchung der Knochenmikrostruktur anhand von Dünnschnitten bietet eine Vielzahl von Informationen nicht nur hinsichtlich diagenetischer Fragestellungen (siehe 1.3), sondern auch bezüglich des Sterbealters, Stressmarkern und pathologischer Veränderungen (z.B. Schultz 2001).

Im Rahmen einer von der Autorin betreuten Bachelorarbeit (Lihl 2012) wurde ein Teil der tierischen Vergleichsknochen für die histologische Analyse vorbereitet und hinsichtlich mikrostruktureller Besonderheiten ausgewertet. Da sich das Interesse der vorliegenden Arbeit jedoch auf diagenetische Aspekte konzentrierte, wurden sämtliche Präparate im Anschluss nachbefundet und neu bewertet.

3.3.1 Herstellung histologischer Dünnschnitte

Vor der Präparation histologischer Schnitte wurde mithilfe eines Allzweckwerkzeugs mittels einer Trennscheibe aus Korund ein Stück Knochen aus dem oberen Diaphysendrittel jeder Probe entnommen, gewaschen, entfettet (siehe 3.2) und luftgetrocknet.

Vor dem Schneiden wurden die Proben zur Stabilisierung in Zweikomponentenkunstharz eingebettet. Die Methode orientierte sich dabei an der Vorgehensweise von Herrmann et al. 1990, bei welcher das Kunstharz Biodur E12 mit dem entsprechenden Härter E1 (beide Biodur®Products) im Mischungsverhältnis 100:28 vermischt wurde, bis eine schlierenfreie Homogenisierung erreicht war. Die vorbereiteten Knochenstücke wurden jeweils mit der periostalen Seite nach oben in einen Einweg-Kunststoffbecher gelegt und vollständig mit dem vorbereiteten Kunstharzgemisch bedeckt. Die Becher wurden anschließend für 48 Stunden bei einem Unterdruck von -0,8 bar evakuiert, um Luft aus der Probe heraus- und gleichzeitig das Kunstharz in diese hineinzuziehen. Die Aushärtung der Präparate erfolgte über 24 Stunden bei 30°C im Wärmeschrank (Memmert) und über weitere 24 Stunden bei Raumtemperatur. Danach konnten die eingebetteten Knochenproben mit dem Mikrotom geschnitten werden. Dazu wurden die Kunstharzblöcke in der Transversalebene des eingebetteten Knochens einseitig auf einer Tellerschleifmaschine angeschliffen (Dap-V, Struers), um eine ebene Fläche für das Aufkleben des Blocks auf den Probenträger des wassergekühlten Innenlochsägemikrotoms (SP1600 und 1600, Leica) zu schaffen. Mit Hilfe eines Diamantsägeblatts (D46N S35D, Winter) wurden nun vier bis fünf Dünnschnitte entlang der Transversalebene der Probe in einer Stärke von 60-80 µm angefertigt. Nach kurzer Trocknungszeit der Schnitte wurden diese mithilfe des Kunstharzklebstoffs Eukitt (O. Kindler) auf Glasobjektträgern (76 x 26 mm, Roth) fixiert, überschichtet und anschließend mit einem Deckgläschen (24 x 60 mm, Roth) luftdicht abgedeckt, um sie dauerhaft haltbar zu machen.

3.3.2 Mikroskopische Untersuchung und Digitalisierung der Präparate

Die Untersuchung der Dünnschnitte erfolgte lichtmikroskopisch (Axioskop 2 plus, Zeiss), typischerweise mit einer 50-fachen Vergrößerung (Objektivvergrößerung 5-fach). Für Detailansichten wurden höhere Vergrößerungen bis 400-fach gewählt. Neben der Beurteilung der Proben in Hellfeldbetrachtung wurde weiterhin das Doppelbrechungsverhalten der Schnitte unter Beleuchtung mit polarisiertem Licht bewertet, da sich so erkennen lässt, ob das Mineral-Kollagen-Gefüge noch in intakter Form vorliegt (siehe 1.2.1.3). Jede Probe wurde an einer repräsentativen oder diagnostisch aussagekräftigen Stelle im RGB-Modus fotografiert (AxioCam MRc color, Zeiss) und die Aufnahme anschließend mithilfe der Bildbearbeitungssoftware AxioVision (Version 5.0, Zeiss) mit einem Maßstab versehen.

3.3.3 Klassifizierung postmortaler Veränderungen

Die mikroskopische Analyse von Knochengewebe ist ein wichtiges Hilfsmittel in der Diageneseforschung, da sich die taphonomische Geschichte der Bestattung anhand spezifischer Veränderungen an der Knochenhistologie rekonstruieren lässt (Hollund et al. 2012). Zur Klassifizierung bakterieller Aktivität wurde der Erhaltungszustand der Dünnschnitte nach dem sechsstufigen Oxford Histologischen Index (OHI) von Hedges et al. (1995) und Millard (2001) bewertet. Ein Index-Wert von 5 entspricht dabei dem mikrostrukturellen Erscheinungsbild von frischem Knochen, während 0 den totalen mikrobiellen Abbau der Originalstruktur beschreibt (vgl. Tabelle 3.2).

Tabelle 3.2 Einteilung des mikrostrukturellen Erhaltungsgrades nach Millard (2001).

OHI-Klasse	% intakter Knochen	Beschreibung
0	0 – 5	Vollständige Zerstörung der Originalstruktur, eventuell nur noch Havers'sche Kanäle identifizierbar
1	5 – 15	Kleine Bereiche gut erhaltenen Knochens, lamelläre Strukturen noch erkennbar
2	15 – 50	Bereiche gut erhaltenen Knochens zwischen zerstörtem Gewebe
3	50 – 85	Größere Bereiche gut erhaltenen Knochens
4	85 – 95	Gute Erhaltung des Knochens mit Ausnahme kleiner zerstörter Bereiche
5	95 – 100	Sehr gute Gewebeerhaltung, frischem Knochen ähnlich

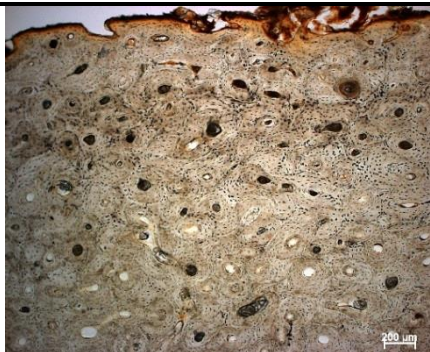
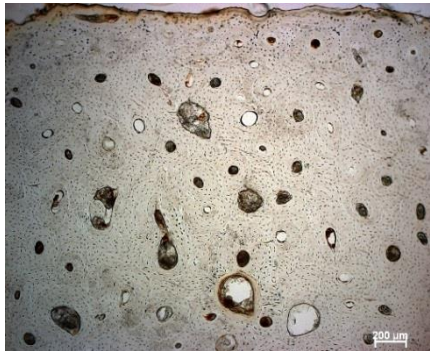

3.3.4 Histopathologie

Um zu erkennen, ob taphonomische Veränderungen des Knochengewebes ursächlich für Abweichungen in den für Isotopenanalysen gesetzten Qualitätsgrenzen für Knochenkollagen und -mineral sein könnten (siehe Punkt 1.5) oder ob eventuell pathophysiologische Ursachen zu einer

Verschiebung der Werte aus dem Normbereich für gesundes Gewebe führen, wurden auch pathologische Auffälligkeiten der Knochenmikrostruktur beurteilt. So ist beispielsweise in der Literatur belegt, dass vermehrte Knochenresorption (Osteoporose) in erhöhten Kristallinitätswerten des Knochenminerals resultiert (z.B. Paschalis et al. 2003, 2004).

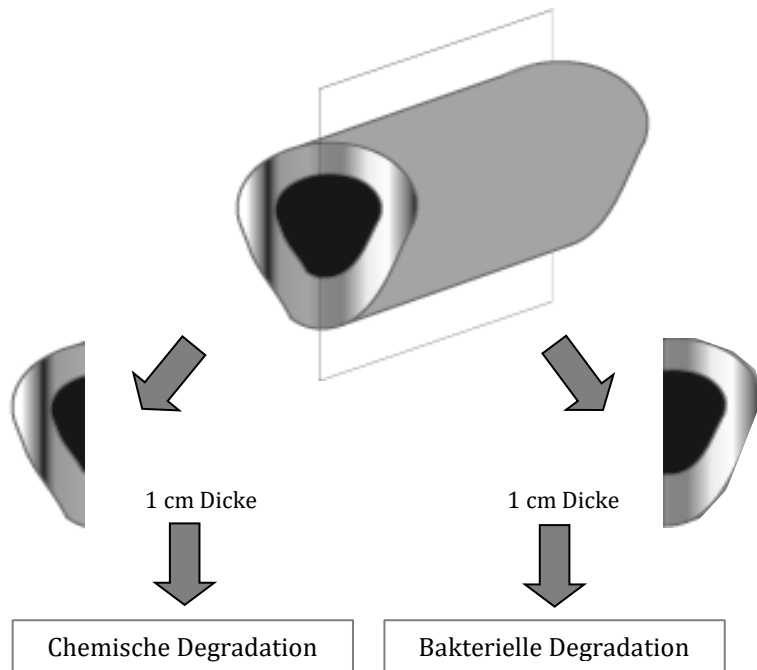
Die Resorption von Knochengewebe in der Corticalis wurde mithilfe eines dreistufigen Indexes, welcher die Prävalenz und Schwere des Knochenabbaus an histologischen Dünnschnitten klassifiziert, beschrieben (Tabelle 3.3).

Tabelle 3.3 Beurteilung des Knochenresorptionsgrades anhand histologischer Schnitte.

Index	Beschreibung	
0	Keine Resorption oder nur leicht vergrößerte Havers'sche Kanäle	
1	Mittelschwere Resorption	
2	Hochgradige Resorption	

3.4 Experimentelle Degradationsversuche

Sechs frische humane Femurdiaphysenstücke (vgl. 2.3) wurden verschiedenen degradativen Bedingungen unterworfen (siehe 3.4.1 und 3.4.2). Hierfür wurden die Proben zunächst mechanisch von anhaftendem Weichgewebe befreit, und das Knochenmark wurde entfernt. Anschließend



wurden die Knochenstücke mithilfe einer Bandsäge (Metabo) entlang der Sagittalebene halbiert und in jeweils 1,0 cm dicke Stücke geschnitten (Abb. 3.2).

Abb. 3.2 Vorbereitung der Femurdiaphysen für die experimentelle Degradation. Jeder Spenderknochen wurde nach der mechanischen Säuberung entlang der *Linea aspera* halbiert und anschließend in gleich dicke Stücke gesägt.

Bis zur weiteren Verwendung wurden die Proben bei -18°C eingefroren gelagert.

3.4.1 Chemische Degradation frischer Knochen

Auch unter Liegebedingungen, die für Mikroorganismen ungünstig sind und damit die bakterielle Degradation von Knochen hemmen, ist das Gewebe dennoch chemischen Abbauprozessen unterworfen. Zur Simulation dieses Abbauweges wurden die vorbereiteten Unterproben der drei frischen humanen Femurdiaphysen bei 90°C unterschiedlich lange in Wasser gekocht.

Hierfür wurden die Knochenstücke zunächst verschiedenen Vorbehandlungsschritten unterzogen, die hauptsächlich der Entfernung von Blutresten und Fett dienten (nach Dobberstein et al. 2009). Zunächst wurden die für die chemische Degradation vorgesehenen Unterproben der Spenderfemora jeweils in einem Becherglas über Nacht in 15 %iger NaCl-Lösung auf einem Schüttler bei 4°C im Kühlraum gewaschen. Die Kochsalzlösung war vorgekühlt sowie mit einem Protease-Inhibitorcocktail (Inhibitorcocktail Plus, Roth; 500 µl auf 500 ml NaCl-Lösung) versetzt, um eine mögliche Zersetzung des Kollagens noch vor dem Beginn des Degradationsexperiments auszuschließen. Anschließend wurden die Proben 4-5 Mal mit deionisiertem Wasser gespült und 30 Minuten in einem Gemisch aus Ethanol und Diethylether (Roth) im Verhältnis 3:1 im Kühlraum

auf einem Schüttler geschwenkt. Danach wurden die Knochenstücke erneut 4-5 Mal in deionisiertem Wasser gespült, bevor sie mit vorgekühlter und mit Protease-Inhibitorcocktail (Inhibitorcocktail Plus, Roth; 500 µl auf 500 ml SDS-Lösung) versetzter 2 %iger SDS-Lösung (Roth) überschichtet wurden. Die Knochen verblieben für eine Stunde bei 4°C auf dem Schüttler, dann wurden sie erneut 4-5 Mal mit Wasser gespült, um das Detergens und letzte Reste von Weichgewebe abzuwaschen. Im Anschluss wurden die Proben gefriergetrocknet (Alpha 1-4 LD-2, Christ).

Für die eigentliche Inkubation wurden jeweils 11 Unterproben der drei Femora in mit Leitungswasser gefüllten Erlenmeyerkolben (300 ml), welche mit Dura Seal® (Diversified Biotech) verschlossen wurden, bei 90°C im Wärmeschrank (Heraeus) gekocht. Die Knochen wurden bewusst in Leitungswasser inkubiert, da dieses gelöstes Carbonat enthält und so die Gegebenheiten im Boden besser darstellt als deionisiertes Wasser. Die Konzentrationen an Hydrogencarbonat bzw. Carbonat im Wasser betrugen im Median 290,4 mg/l bzw. 0,4 mg/l (SWM, Münchner Trinkwasseranalysenwerte, Stand Januar 2012), was in einer mittleren Hydrogencarbonatkonzentration von 8,7 mg/30 ml bzw. 87,1 mg/300 ml und einer Carbonatkonzentration von 0,012 mg/30 ml bzw. 0,12 mg/300 ml resultierte. Trotz Versiegelung im Laufe der Inkubation verdunstetes Wasser wurde durch deionisiertes Wasser ersetzt.

Da aus vorhergehenden Studien bekannt war, dass sich die deutlichsten Veränderungen an der Knochenmatrix nach einer Kochdauer von acht bis 12 Tagen manifestieren (Harbeck und Grupe 2009), wurden folgende Beprobungsintervalle ausgewählt, nach welchen jeweils ein Knochenstück entnommen, gefriergetrocknet und bis zur weiteren Verwendung bei -18°C gelagert wurde:

Beprobungsintervall in Tagen: 4 → 6 → 8 → 10 → 12 → 14 → 16 → 20 → 24 → 28 → 32

Jeweils ein Knochenstück wurde nicht gekocht und verblieb als Referenzprobe bis zur weiteren Bearbeitung im Gefrierschrank bei -18°C.

3.4.2 Bakterielle Animpfungsversuche

Um den Effekt bakterieller Degradation auf die organische und anorganische Knochenmatrix und damit auch die unmittelbaren Auswirkungen auf die Ergebnisse der Analyse stabiler Isotope genauer zu verstehen, wurden frische Knochen mit bekannter physiologischer Ausgangsisotopie kontrolliert mit ausgewählten Bakterienstämmen beimpft und über mehrere Monate inkubiert. Dieser Annäherungsversuch wurde bereits in einigen Studien verfolgt (Balzer et al. 1997; Fernández-Jalvo et al. 2010), jedoch wurde für diese Versuche kein humanes Material verwendet, und besonders die Erfahrungen mit anaeroben Bakterien sind aufgrund der erschwerten Anzucht- und Inkubationsbedingungen gering.

Die Auswahl der Keime für die experimentelle Animpfung erfolgte anhand der Erfahrungswerte aus vorangegangenen Studien (Balzer et al. 1997), nach dem ubiquitären Vorkommen der Mikroorganismen im menschlichen Körper oder der Bodenflora, der Fähigkeit, auch bei niedrigen

3. METHODEN

Durchschnittstemperaturen, wie sie im Grabmilieu vorherrschen, wachsen zu können sowie der Effektivität der jeweiligen Kollagenase.

3.4.2.1 Inokulation mit aeroben Mikroorganismen

Für die Animpfung der Knochen wurden nach oben genannten Kriterien zwei obligat aerobe Bakterienspezies ausgewählt, welche in der Lage sind, tote Materie zu zersetzen und durch ihre ubiquitäre Verbreitung auch im Grabkontext anzutreffen sind. Da es sich bei den Mikroorganismen um Keime der Risikogruppe 1 nach TRBA²⁴ handelt, es also unwahrscheinlich ist, dass diese eine Infektionskrankheit bei Menschen hervorrufen, konnten die Animpfungsversuche in den Laboratorien der Arbeitsgruppe durchgeführt werden.

Die zur Beimpfung vorgesehenen, jeweils 1 cm dicken Knochenstücke wurden vor Versuchsbeginn zu Sterilisierungszwecken von allen Seiten für jeweils 15 Minuten mit kurzzeitigem UV-Licht auf einem Transilluminator (Pharmacia Biotech) bestrahlt und anschließend bis zur Inokulation in sterilen Zentrifugenröhrchen (Roth) aufbewahrt.

Als Inkubationstemperatur wurde dem Versuch die optimale Wachstumstemperatur der Mikroorganismen zugrunde gelegt, da die gleichbleibend niedrigen Temperaturen, wie sie im Grabmilieu vorherrschen, das Wachstum und den Stoffwechsel der Bakterien zu stark verlangsamt und somit zu einer übermäßigen zeitlichen Ausdehnung des Experiments geführt hätten. *Pseudomonas fluorescens* wächst optimal in einer Temperaturspanne zwischen 25 und 30°C, *Streptomyces griseus* zwischen 25 und 35°C (Gügi et al. 1991, Kampfer 2012). Da für den Versuch nur ein Inkubator zur Verfügung stand, wurde die Inkubationstemperatur für beide Arten auf 30°C festgelegt. Inkubiert wurde über einen Zeitraum von 9 Monaten. Um dem Austrocknen des Agars entgegenzuwirken, wurden die Platten alle zwei bis drei Tage jeweils mit 2-3 ml sterilem Wasser (Ampuwa, Fresenius) befeuchtet.

Jeweils ein Knochenstück pro Spender blieb unbeimpft und wurde auf einer Agarplatte mit GYM-*Streptomyces* Medium (siehe Tabelle 3.5) platziert. Diese Proben wurden als unbeimpfte Kontrollen über den Inkubationszeitraum mitgeführt.

Nach dem Ende der Inkubationszeit wurden die Agarplatten mit den angeimpften Knochenproben sowie die drei Kontrollen für 40 Stunden bei 25 kGy²⁵ Gamma-bestrahlt, um die Bakterien abzutöten (GammaCell 2, Helmholtz-Zentrum München).

²⁴ Technische Regeln für Biologische Arbeitsstoffe 466, Einstufung von Prokaryonten (Bacteria und Archaea) in Risikogruppen

²⁵ 25 Kilo Gray = 25.000 Gray (1 Gy = 1 J/kg); übliche Sterilisierungsdosis für medizinisches Gerät (z.B. Gorna und Gogolewski 2003)

Animpfung mit *Pseudomonas fluorescens* (Migula)

Bei *Pseudomonas fluorescens* handelt es sich um ein Gram-negatives, Oxidase-positives Stäbchen, welches weit im Boden verbreitet und häufig auf sich zersetzendem pflanzlichem Material anzutreffen ist. Aufgrund seiner effektiven proteolytischen und lipolytischen Eigenschaften sowie seiner Fähigkeit, auch bei niedrigen Temperaturen wachsen zu können, spielt es eine entscheidende Rolle bei der Verderblichkeit von Lebensmitteln (Rajmohan 2002).

P. fluorescens wurde als Stamm DSM 50090 (Isolat aus Vorfiltertanks) in Form eines gefriergetrockneten Pellets vom Leibniz-Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH bezogen.

Vor der Beimpfung der Knochen wurde das Bakterienlyophilisat nach den Vorgaben der DSMZ in Flüssigmedium angezüchtet, welches nach Tabelle 3.4 durch Mischen der Nährmedien angesetzt und anschließend autoklaviert wurde.

Tabelle 3.4 Herstellung des Flüssignährmediums für die Anzucht von *Pseudomonas fluorescens*.

Menge	Nährmedium
2,5 g	Pepton (Roth)
1,5 g	Fleischextrakt (Roth)
ad 500 ml	H ₂ O deion.

Zur Anzucht wurde die Doppel-Glasampulle mit den gefriergetrockneten Keimen durch Erhitzen der Glasspitze der äußeren Ampulle geöffnet und das innere Röhrchen entnommen.

Der Verschlussstopfen wurde mit einer Pinzette entfernt und steril aufbewahrt.

Vor der Zugabe von 0,5 ml des vorberei-

teten Flüssigmediums wurde der Rand des Röhrchens abgeflammt, und anschließend wurde das Röhrchen wieder verschlossen, um das Pellet ca. 30 Minuten quellen zu lassen. Nach der Quellzeit wurde der Inhalt des Röhrchens mit einer sterilen Impföse umgerührt und in einen Erlenmeyerkolben mit 200 ml des Flüssigmediums überführt. Die Bakterien wurden zur Vermehrung über Nacht bei 30°C auf einem Schüttler im Brutschrank (Certomat H) inkubiert.

Da die angeimpften Knochenproben auf Agarplatten inkubiert werden sollten, mussten entsprechende Platten mit für *P. fluorescens* geeignetem Medium vorbereitet werden. Dazu wurden am Vortag der Animpfung 150 ml des Flüssigmediums (Tabelle 3.6) mit 2,25 g Agar-Agar (Kobe I, Roth) in einem Erlenmeyerkolben unter Rühren langsam erhitzt, aufgeköcht und autoklaviert. Danach wurden mithilfe von sterilen Einwegpipetten aus Kunststoff (Roth) jeweils 20 ml des Mediums in Gamma-sterilisierte Petrischalen (Roth) pipettiert, welche anschließend nach dem Auskühlen im Kühlschrank aufbewahrt wurden.

Auf die vorbereiteten Agarplatten wurden schließlich 50 µl der Bakteriensuspension mittels eines sterilen Einwegspatels (Roth) ausplattiert, und jeweils vier Knochenstücke pro Spender, welche zuvor in die Bakterienlösung eingetaucht wurden, um eine gleichmäßige Exposition zu gewährleisten, wurden anschließend mit der Querschnittsfläche auf dem Agar platziert.

Nach zwei Tagen zeigte sich eine gleichförmige Rasenbildung schwach gelblicher, schleimiger Kolonien auf dem Agar, was auf ein erfolgreiches Anwachsen von *P. fluorescens* hinwies.

Animpfung mit *Streptomyces griseus* (Krainsky; Waksman und Henrici)

Streptomyces griseus gehört zu den Actinobacteria (früher Actinomyceta) und ist ein Gram-positives, verzweigt pleomorph stäbchenförmiges Bakterium, welches in der Lage ist, Sporen als Dauerform zu bilden. Die Art ist ein wichtiger Antibiotikaproduzent und liefert etwa 70 % der natürlich vorkommenden Antibiotika, die in der Medizin Verwendung finden. So wird beispielsweise Streptomycin zur wirksamen Bekämpfung von Tuberkulose eingesetzt. *S. griseus* Kolonien besitzen einen charakteristischen erdigen Geruch, welcher durch den flüchtige Metaboliten Geosmin hervorgerufen wird (Gerber und Lechevalier 1965).

Die Bakterien des Stammes *Streptomyces griseus* DSM 40236 (Isolat aus Bodenproben) wurden ebenfalls in gefriergetrocknetem Zustand bei der DSMZ erworben und entsprechend dem Vorgehen bei *Pseudomonas fluorescens* (siehe oben) in Flüssigmedium vorkultiviert. Die Zusammensetzung des Nährmediums ist in Tabelle 3.5 erläutert.

Tabelle 3.5 Herstellung des Flüssignährmediums für die Anzucht von *Streptomyces griseus* (GYM *Streptomyces* Medium).

Menge	Nährmedium
2 g	Glucose (Roth)
2 g	Hefeextrakt (Roth)
5 g	Malzextrakt (Roth)
ad 500 ml	H ₂ O deion.

Da die Vermehrungsrate der Bakterien nach der Übernachtskultur bei 30°C auf dem Schüttler zu gering war, was an der fehlenden Trübung des Nährmediums erkennbar war, wurden die Kulturen für weitere 24 Stunden im Brutschrank auf dem Schüttler belassen. Die starke Trübung des beimpften Flüssigmediums nach dieser zusätzlichen Inkubationszeit

zeigte an, dass sich die Bakterien in ausreichender Zahl vermehrt hatten, um die Animpfung der Knochenproben durchzuführen. Auch die Vorbereitung der Agarplatten für den Animpfungsversuch erfolgte analog zu den für *P. fluorescens* beschriebenen Schritten am Vortag der Inokulation der Knochenproben (siehe oben). Hierfür wurden 150 ml des GYM-Flüssigmediums mit 0,3 g CaCO₃ (Roth) sowie 1,8 g Agar (Kobe I, Roth) vermischt. Auch hier wurden die vorbereiteten Platten bis zur Animpfung im Kühlschrank gelagert. Anschließend wurden wiederum 50 µl der Bakteriensuspension auf den vorbereiteten Agarplatten ausplattiert und jeweils drei vorher in das beimpfte Flüssignährmedium eingetauchte Knochenstücke pro Spender mit der Querschnittsfläche auf den Agar aufgelegt. Bereits am nächsten Tag zeigte sich das für *S. griseus* charakteristische gräulich-weiße Myzel, das die Knochenstücke und das Nährmedium flächig überzog.

3.4.2.2 Animpfung mit anaeroben Bakterien

Obwohl besonders anaerobe Stämme dafür bekannt sind, hocheffektive Kollagenasen zu exprimieren (z.B. Harrington 1996), sind die Effekte anaeroben Abbaus auf Knochengewebe kaum untersucht und charakterisiert. Systematische Untersuchungen an experimentell anaerob degradiertem Material liegen bislang nicht vor. Dies mag darin begründet sein, dass die Anzucht an-

aerober Keime im Labor besondere Bedingungen erfordert, die nur von spezialisierten Einrichtungen erfüllt werden können. Unter ungünstigen Bedingungen, wie sie bei längeren Inkubationszeiträumen auftreten können (Nährstoffmangel, geringe Sauerstoffexposition), neigen viele anaerobe Arten dazu, Sporen als Dauerstadien zu bilden (Paredes et al. 2005), was das Experiment vorzeitig stoppen würde. Zudem sind die aufgrund der oben genannten Kriterien für die experimentelle anaerobe Degradation infrage kommenden Bakterien mehrheitlich in Risikogruppe 2 eingeordnet, können also Krankheiten beim Menschen hervorrufen. Das Arbeiten mit diesen Keimen erfordert daher Laboreinrichtungen, welche nach Schutzstufe 2 (S2) Kriterien geführt werden. Daher wurde die Animpfung der Knochenproben mit den beiden ausgewählten anaeroben Mikroorganismen am Institut für Lebensmittelsicherheit und Hygiene der Universität Zürich von Dr. med. vet. Sophia Johler durchgeführt.

Vor dem Kurierversand der Proben nach Zürich wurden die zur Beimpfung vorgesehenen Knochenstücke der frischen Spenderfemora zunächst zur Sterilisierung von allen Seiten für jeweils 15 Minuten mit kurzzeitigem UV-Licht auf einem Transilluminator (Pharmacia Biotech) bestrahlt und dann in sterilen Zentrifugenröhrchen (Roth) aufbewahrt. Bis zur Animpfung wurden die Proben bei -18°C gelagert.

Nach den weiter oben beschriebenen Bedingungen wurden zwei anaerob wachsende Keime ausgewählt, die im gefriergetrockneten Zustand von der DSMZ bezogen und direkt an das Institut in Zürich geschickt wurden. Die Vorkultur-, Animpfungs- und Kulturbedingungen wurden für beide Arten identisch gewählt (Protokoll nach Johler, unveröffentlicht).

Da die leistungsfähigsten mikrobiellen Kollagenasen für die Gattung *Clostridium* beschrieben sind (Jackes et al. 2001) und diese für den hauptsächlichen Abbau von Kollagen in der Phase noch vor der Bestattung verantwortlich gemacht werden (Child 1995a), wurde die Art *Clostridium histolyticum*, Stamm DSM 1126 (Bodenisolat), ein Gram-positives, sporenbildendes Stäbchen, für die Animpfung der Knochenproben vorgesehen. *C. histolyticum* ist als obligater Mensch- und Tierpathogen mit seinem Repertoire an mindestens fünf verschiedenen Toxinen der gefährlichste Erreger des Gasbrandes (Gangrän) (Popoff und Stiles 2005). Aufgrund der Pathogenität des Bakteriums wurde es, trotz – oder gerade wegen - seiner stark gewebeauflösenden Eigenschaften, noch nie in Degradationsexperimenten mit Knochengewebe kultiviert.

Auch der zweite Bakterienstamm, *Prevotella melaninogenica* (ehemals *Bacteroides melaninogenicus*), wurde bislang nicht in Diageneseversuchen in Zusammenhang mit Knochen verwendet, obwohl es sich hierbei um einen häufig vorkommenden Keim handelt, welcher als opportunistischer Pathogen die menschliche Mundhöhle besiedelt. Aufgrund seiner Abundanz gilt er als Leitkeim der Rachenflora. *P. melaninogenica* ist ein strikt anaerobes, Gram-negatives, nicht sporulierendes, kokkenförmiges Bakterium. Seine Biofilm-bildenden Eigenschaften machen den Keim zu einem häufigen Auslöser diverser Parodontopathien (Eick et al. 2000). Für den Versuch wurde der Stamm *P. melaninogenica* DSM 7089 (Sputumisolat) verwendet.

3. METHODEN

Vorkultur und Inokulation

Die gefriergetrockneten Kulturen wurden zunächst nach den Vorgaben der DSMZ rehydriert und zur Vorkultur in 10 ml Hungate-Röhrchen mit PRAS PYG FA/GLC²⁶ Medium (Anaerobe Systems) resuspendiert. Die meisten gefriergetrockneten anaeroben Kulturen, die von der DSMZ angeboten werden, sind mit amorphem Eisensulfat (FeS) als Oxidator versetzt und somit auf kurzzeitige Aerotoleranz ausgelegt. Die beimpften Kulturröhrchen wurden für 24 (*Clostridium*) bzw. 48 (*Prevotella*) Stunden in einem Anaerobiertopf (Standard 2,5 Liter, MGC) inkubiert.

Zur Vorbereitung der Animpfung wurden die aufgetauten Stücke der Spenderfemora auf 50 ml Zentrifugenröhrchen (Greiner) verteilt. Jeweils eine Probe von Femur 1-3 wurden als Kontrollen zurückbehalten und direkt auf CDC²⁷ Anaerobier Blutagarplatten (Anaerobe Systems) platziert. Parallel dazu wurden für jeden Bakterienstamm jeweils sechs frische 10 ml PYG FA/GLC Kulturröhrchen mithilfe eines sterilen Spritzbestecks mit je 100 µl der vorbereiteten Vorkulturlösung beimpft und wieder für 24 (*Clostridium*) bzw. 48 (*Prevotella*) Stunden im Anaerobiertopf inkubiert.

Für die Animpfung der Knochenproben war es nötig, die Kulturröhrchen zu öffnen und die 10 ml Bakteriensuspension in die vorbereiteten Zentrifugenröhrchen mit den Proben zu überführen. Um die Sauerstoffexposition möglichst gering zu halten, wurden die CDC Anaerobier Blutagarplatten schon vorher beschriftet und die Anaerobierbox vorbereitet. Nach dem Überführen der Bakteriensuspension in die Zentrifugenröhrchen wurden diese verschlossen und einmal umgedreht, so dass die Probe von allen Seiten gleichmäßig benetzt wurde. Anschließend wurden die Knochenstücke auf die vorbereiteten Agarplatten gelegt und in die Anaerobierbox überführt, welche nach dem Einlegen des Gasentwicklers (AeroGen Sachet, 2,5 Liter, Oxoid) und eines Indikatorstreifens (Oxoid) verschlossen wurde. Der Indikator zeigte an, dass sich innerhalb kurzer Zeit eine vollständig anaerobe Atmosphäre eingestellt hatte. Inkubiert wurde bei Raumtemperatur, um einer zu starken Gasentwicklung durch Gärungsprozesse vorzubeugen. Nach sechsmonatiger Inkubation wurde die Anaerobierbox geöffnet, und die Agarplatten wurden einzeln eingeschweißt und in Sicherheitsbehälter verpackt, um anschließend per Expresskurier zurück nach München versandt zu werden. Um eine sichere Abtötung der Mikroorganismen zu gewährleisten und eine gefahrlose Analyse der Proben zu garantieren, wurden die verschlossenen Sicherheitsbehälter jeweils 40 Stunden lang mit einer Strahlendosis von 25kGy Gamma-bestrahlt (GammaCell 2, Helmholtz-Zentrum München).

²⁶ Pre-Reduced Anaerobically Sterilized Peptone Yeast Extract mit Glukose

²⁷ Center for Disease Control

3.5 Kollagenextraktion

Bevor das Kollagen des Knochens untersucht werden kann, muss es zunächst von der mineralischen Matrix getrennt werden. Zur Extraktion des Kollagens wurde die seit langem routinemäßig etablierte Gelatine-Extraktionsmethode basierend auf dem Protokoll von Longin (1971), mit Modifikationen nach Ambrose (1993), angewendet, bei welcher neben der Demineralisierung der Proteinmatrix auch organische Kontaminationen und nicht-kollagene Proteine (NCP) vom Extrakt abgetrennt werden sollen.

Vor der Extraktionsprozedur wurde mithilfe eines mit einer Trennscheibe aus Korund ausgestatteten Multifunktionswerkzeugs (Proxxon) eine Probe aus dem oberen anterioren Diaphysendrittel des jeweiligen Knochens entnommen. Die rezenten Proben wurden zur Entfernung von Fettrückständen nach dem Soxhlet-Extraktionsverfahren zunächst entfettet (siehe 3.2), Knochen mit einer Liegezeit von mehreren Jahrhunderten wurden direkt bearbeitet. Jede Probe wurde im Ultraschallbad von anhaftendem Schmutz befreit, luftgetrocknet und in einer Kugelschwingmühle gemahlen (Retsch MM200, Mahlbecher aus gehärtetem Stahl).

Jeweils ca. 500 mg Knochenpulver²⁸ wurden auf einer Analysenwaage (Ohaus Analytical plus) in 10 ml Zentrifugenröhrchen (Nalgene Oak Ridge, Thermo Fisher) eingewogen, vorsichtig mit 10 ml 1 M HCl (aus 37 % HCl, Roth) versetzt und 20 Minuten auf einem Schüttler demineralisiert.

Anschließend wurden die Proben für 5 Minuten bei 3000 rpm zentrifugiert (2K15, Sigma; Z233MK-2, Hermle, jeweils mit Winkelrotor), der Überstand verworfen und das Pellet mit destilliertem Wasser gewaschen. Dieser Schritt wurde wiederholt, bis der pH-Wert des Überstandes dem des destillierten Wassers entsprach (ca. pH 5,5-6). Das neutralisierte Pellet wurde anschließend mit 10 ml 0,125 M NaOH (aus NaOH-Plätzchen, Roth) versetzt und 20 Stunden auf dem Schüttler belassen, um bodenlagerungsbedingte Huminstoffkontaminationen zu entfernen. Danach wurde der oben beschriebene Waschschrift wiederholt, bis die Lauge neutralisiert war. Das Pellet wurde nun mit 10 ml 0,001 M HCl (aus 37% HCl, Roth) versetzt und für 17 Stunden bei 90°C im Wasserbad (Memmert) gelatinisiert. Zur Entfernung unlöslicher Schmutzpartikel wurde die Flüssigkeit anschließend über Nutschen (100 ml, Schott Duran) und Filterfritten (50 ml, Por. 3, Schott Duran), welche zusätzlich mit Rundfiltern aus Papier ausgekleidet waren (55 mm, Macherey-Nagel), gefiltert und in 10 ml Rollrandgläschen überführt. In diesen wurde die Flüssigkeit über drei bis 4 Tage bei -50°C gefriergetrocknet (Alpha 1-4LD, Christ)²⁹.

²⁸ Für rezente Proben jeweils 250 mg, alle Chemikalienvolumina wurden im Folgenden halbiert.

²⁹ Ein Teil der in der vorliegenden Studie untersuchten Proben des Westfriedhofs (n = 14) wurde im Rahmen einer von der Autorin betreuten Bachelorarbeit extrahiert (Martin 2010) sowie massenspektrometrisch gemessen (vgl. 3.5.1 und 3.5.2). Die Daten der in jener Arbeit ebenfalls durchgeführten Aminosäureanalyse wurden jedoch im Anschluss neu erhoben und ausgewertet, da dem Standard nachträglich die Aminosäure Hydroxylysin hinzugefügt wurde (vgl. 3.6).

3.5.1 Bestimmung des anteiligen Kollagengehalts der Probe

Der Kollagengehalt der untersuchten Probe wurde anhand des relativen prozentualen Gewichtsanteils des demineralisierten Knochens am Gesamtgewicht des eingesetzten Knochenmehls errechnet. Hierfür wurde das Lyophilisat auf einer Analysenwaage abgewogen und das ermittelte Gewicht mit dem Einwaagegewicht vor der Extraktion verrechnet. Daraus ergab sich der Anteil der Kollagenfraktion in Gewichtsprozent.

Das abgewogene Lyophilisat wurde bis zur weiteren analytischen Verwendung bei -18°C in 1,5 ml Reaktionsgefäßen (Roth) gelagert.

3.5.2 Isotopenanalyse und Ermittlung des molaren C/N Verhältnisses

Das Kollagenlyophilisat wurde zur massenspektrometrischen Analyse der stabilen Isotope von Kohlenstoff und Stickstoff an das Isotopenlabor des GeoZentrums Nordbayern der Friedrich-Alexander-Universität, Erlangen, versandt. Hierfür wurden vorbereitend jeweils zwischen 0,5 und 0,6 mg der gefriergetrockneten Proben auf einer Feinwaage in Zinnkapseln (5x12 mm, IVA Analysentechnik) eingewogen, welche anschließend zum Versand in 96-Well-Platten (Roth) platziert wurden.

In einem Elementaranalysator (CE 1100, Carlo-Erba) wurden die Proben zunächst mit den Zinnkapseln verdampft und in die einzelnen Elemente aufgetrennt, bevor das Gasgemisch in einem Helium-Strom über ein Conflo III Interface (ThermoFinnigan) in das gekoppelte Massenspektrometer (Delta V Plus, ThermoScientific) überführt wurde, wo die Isotopenverhältnisse von Kohlenstoff und Stickstoff analysiert wurden. Das Verhältnis von schwerem zu leichtem Isotop wurde in der konventionellen δ -Notation in Promille (‰) angegeben (nach Mc Kinney et al. 1950, in Ambrose 1993, siehe auch 1.4), wobei Kohlenstoff gegen den Standard V-PDB³⁰, Stickstoff gegen atmosphärischen Luftstickstoff gemessen wurde (Craig 1957, Mariotti 1983). Da die massenspektrometrische Determinierung der Isotopenverhältnisse hauptsächlich der Überprüfung potenzieller diagenetischer Veränderungen des Knochenkollagens diene, war besonders die Berechnung des molaren C/N-Quotienten von Bedeutung, da dieser in Paläoernährungsstudien routinemäßig als Indikator für die Integrität des Kollagens verwendet wird (siehe 1.5.1).

Hierfür wurde zunächst das Einwaagegewicht des Lyophilisats in den Zinnkapseln mit dem bei der Elementanalyse bestimmten jeweiligen Atomgewicht (% C, % N) multipliziert. Daraus ergab sich der Gewichtsanteil des gemessenen Elements an der Gesamtprobe in Milligramm. Zur Ermittlung der Stoffmenge (n [mol]) wurde das berechnete Gewicht durch die molare Masse des jeweiligen Atoms geteilt ($M_C = 12010,7$ mg; $M_N = 14006,7$ mg). Das molare C/N-Verhältnis konnte anschließend durch die Division der Stoffmenge von Kohlenstoff durch die des Stickstoffs berechnet werden.

³⁰ Vienna-Pee Dee Belemnite

3.6 Chromatographische Proteinanalytik (HPLC)

Die Aminosäureanalyse wurde bereits 1958 von Spackman et al. nach einer mit heutigen Verfahren vergleichbaren Methodik durchgeführt und gilt somit als Routine-Messverfahren. Die Analyse folgt dem Prinzip der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC³¹), einem chromatographischen Trennverfahren, bei dem nicht-flüchtige Substanzen über eine Trennsäule mit einer Silica-Matrix gepumpt und so anhand ihrer Polarität aufgetrennt werden.

Weil das Kollagen des Knochens nach der Extraktion (siehe 3.5) in Molekülform vorliegt, sprich die Aminosäuren noch in Polypeptidketten organisiert sind, müssen diese für die Aminosäureanalyse zunächst aufgebrochen werden, um die einzelnen Aminosäuren in Lösung zu bringen. Da die Gefahr besteht, dass die Moleküle durch ungeeignete Hydrolyseparameter einerseits nicht vollständig gespalten oder aber die Aminosäuren durch Oxidation geschädigt werden, wurde vor der Reihenmessung der Proben die Eignung verschiedener Hydrolysebedingungen im Rahmen eines von der Autorin betreuten Forschungspraktikums getestet (Immler, Daten unveröffentlicht). Die entsprechende Versuchsanordnung und die Ergebnisse der Analyse finden sich im Anhang (Punkt c, Seiten 319 ff.).

3.6.1 Hydrolyse des Lyophilisats

Da die Voruntersuchung der optimal für die vorliegende Studie geeignete Hydrolysemethode ergab, dass die Spaltung des Kollagens mit 6 N HCl unter anoxischen Bedingungen gegenüber den anderen getesteten Verfahren im Vorteil war, wurde diese Methode für die Hydrolyse aller untersuchten Proben verwendet.

Für die Hydrolyse unter Sauerstoffabschluss wurde jeweils 1 mg pro Probe in ein 1,5 ml Gewindefläschchen aus Borosilikatglas (Roth) eingewogen und mit 1 ml 6 N HCl versetzt. Anschließend wurden die Fläschchen jeweils mit einer passenden Schraubkappe aus PP verschlossen, welche mit einem Silikon/PTFE Septum (Ultraclean) für multiple Injektionen (Roth) ausgestattet war. Jedes Fläschchen wurde anschließend für ca. 20 Sekunden über eine Injektionskanüle (Sterican, Roth) mit Stickstoff gespült. Zur Entlüftung wurde zeitgleich eine weitere Kanüle durch das Septum gestochen. Danach wurde der Deckel jeder Probe mit DuraSeal (Diversified Biotech) verschlossen, und die Proben wurden in Aluminiumfolie eingewickelt, um eine gleichmäßige Wärmeverteilung zu gewährleisten. Anschließend wurden die Proben ebenso auf die Heizplatte gestellt (siehe weiter oben) und für 14, 18 bzw. 24 Stunden bei 115° C hydrolysiert. Nach erfolgter Inkubation wurden die in Säure gelösten Proben mit einer Pipette in beschriftete 3 ml PTFE-Gefäße überführt, welche mit Aluminiumfolie umwickelt und zum Abrauchen der Säure offen auf die Heizplatte (90° C) gestellt wurden.

³¹ High Performance Liquid Chromatography (ehemals High Pressure Liquid Chromatography)

3.6.1 Aminosäureanalyse

Unabhängig von der verwendeten Hydrolysemethode wurde das Hydrolysat vor der Messung in 1 ml Lithium-Citrat-Probenverdünnungspuffer (pH 2,20; Sykam) gelöst und in 1,5 ml Reaktionsgefäße (Roth) überführt, was eine Stammlösung mit einer Konzentration von 1 mg Protein/ml ergab. Je nach vermutetem Erhaltungszustand des Kollagens musste die Stammlösung, basierend auf der Extraktionsausbeute und Erfahrungswerten folgend, weiter verdünnt werden, da eine zu hohe Aminosäurekonzentration die Trennsäule überladen und so irreversibel schädigen kann. Mutmaßlich gut erhaltenes und frisches Kollagen wurde im Verhältnis 1:5 verdünnt, bei schlechterem Erhalt wurde entsprechend eine höhere Stammlösungsmenge eingesetzt. Verdünnt wurden die Proben in 1,5 ml Gewindefläschchen aus Glas (Roth), welche mit Schraubkappen aus PP mit perforierbarem Silikon/PTFE-Septum (Ultraclean, Roth) verschlossen und in den Probengeber der HPLC-Maschine (Aminosäureanalysator S 443, Li-System, Nachsäulenderivatisierung, Sykam) gestellt wurden. An letzter Position befand sich jeweils eine Standardlösung (Physiological Fluids, Sykam) mit bekannten Aminosäurekonzentrationen³². Jeweils 100-150 µl jeder Probe wurden über eine Injektionskanüle in die Kapillaren des Geräts gezogen, mit Li-Citrat-Puffer (A1, pH 2,9, Sykam) vermischt und auf die Trennsäule gepumpt (LCA K14/Li, Sykam). Der niedrige pH-Wert des Puffers garantiert eine positive Ladung der Aminosäuren, welche so an dem negativ geladenen Austauschharz in der Säule binden. Eine Veränderung der Bedingungen in der Säule (Anhebung des pH-Werts, der Säulentemperatur und der Ionenkonzentration der Puffer) durch die Zumischung weiterer Puffer (Li-Citrat B1, pH 4,2; Li-Citrat/Borat, pH 8,0, Sykam) führt dazu, dass die einzelnen Aminosäuren nach und nach ihren isoelektrischen Punkt erreichen, also keine Ladung mehr aufweisen und so aus der Säule ausgespült werden. Für die Detektion der Aminosäuren werden diese nach ihrer Elution von der Säule in einem Mischblock mit Ninhydrin (Sykam) vermischt und über die 130° C heiße Reaktorspule geleitet, in der das Ninhydrin mit den Aminosäuren zu einem violett gefärbten Komplex reagiert (Ruhemanns Purpur). Die Iminosäuren Prolin und Hydroxyprolin werden aufgrund der fehlenden freien α -Aminogruppen gelb gefärbt. Die farbigen Komplexe werden photometrisch detektiert, violett bei einer Wellenlänge von 570 nm und gelb bei 440 nm. Die Farbintensität dient als direktes Maß für die Aminosäurekonzentration, die Retentionszeit bestimmt die jeweilige Aminosäure – dargestellt als Chromatogramm in der Software ChromStar (Version 7.0, SCPA). Die Nachweisgrenze dieses Verfahrens liegt bei einer Aminosäurekonzentration von 0,05 nmol/µl.

3.6.2 Nachbearbeitung und Auswertung der Chromatogramme

Um die Aminosäurekonzentrationen in den Proben exakt quantifizieren zu können, musste jeder Probenlauf auf den mitgeführten Standard kalibriert werden. Hierfür wurde sichergestellt, dass alle Aminosäurepeaks in der gemessenen Standardlösung von der Software korrekt erkannt und

³² Hydroxylysin wurde dem Standard nachträglich hinzugemischt.

integriert worden waren. Anschließend wurde der ausgewählte, bearbeitete Standard als Referenzchromatogramm für den jeweiligen Lauf definiert und alle Proben dann auf diesen kalibriert. Danach wurde jede Probe einzeln überprüft, und nicht automatisch erkannte Peaks wurden nachintegriert. Schließlich wurden die in nmol angegebenen Konzentrationen der Aminosäuren zur besseren Vergleichbarkeit in nmol % umgerechnet und die Gesamtproteinmenge in Relation zum eingewogenen Probengewicht berechnet.

3.7 Deproteinierung der Knochenmatrix

Für die Analyse von strukturellen und kompositionellen Veränderungen der anorganischen Knochenfraktion, besonders in Hinblick auf die Untersuchung der stabilen Isotope von mineralischem Kohlenstoff und Sauerstoff, muss die organische Komponente entfernt werden.

Hinsichtlich der Extraktionsmethode muss ein Kompromiss eingegangen werden zwischen der ausreichenden Entfernung der organischen Substanz sowie von exogenem, diagenetischem anorganischen Material und zu starker Anlösung des Bioapatits mit potenziellem Verlust besonders von strukturellem Carbonat und Initiierung von Rekristallisationsprozessen. Die vergleichende Studie von Koch et al. (1997) zeigte, dass die Verwendung von NaOCl zur Entfernung des Proteinanteils und die anschließende Behandlung mit Ca-Acetat-Essigsäurepuffer, wie bei Balasse et al. 1999, in der Regel die Anforderungen an die Isolierung der mineralischen Fraktion am besten erfüllt.

Hierfür wurde das nach 3.5.1 vorbereitete Knochenpulver zu jeweils 100 mg in 10 ml Zentrifugenröhrchen (Nalgene Oak Ridge, Thermo Fisher) eingewogen, mit 5 ml 4 % NaOCl-Lösung (aus 12 % Stammlösung, Roth) versetzt und drei Tage auf einem Schüttler (neolab) deproteiniert. Je nach der Stärke der Entwicklung von Bläschen, welche auf die Zersetzung der organischen Bestandteile hinweist, wurde die NaOCl-Lösung nach 24 Stunden gewechselt, bei Bedarf auch häufiger. War keine Bläschenbildung mehr erkennbar, wurden die Proben für 5 Minuten bei 5000 rpm zentrifugiert (2K15, Sigma; Z233MK-2, Hermle). Der Überstand wurde verworfen und das Pellet anschließend mit destilliertem Wasser durch wiederholtes Zentrifugieren bis zu dessen Neutralpunkt gewaschen. Da NaOCl während des Deproteinierungsprozesses atmosphärisches Kohlendioxid binden kann, welches die Isotopensignatur der Probe durch eine Mischung der Isotopen verfälscht (Pellegrini 2013), wurden die Proben anschließend mit 5 ml Ca-Acetat-Essigsäurepuffer (pH 4,75) versetzt und für 6 Stunden auf dem Schüttler belassen, bevor erneut zentrifugiert und das Pellet neutral gewaschen wurde. Der Rückstand wurde in 5 ml Schnappdeckelgläschen (Roth) überführt und drei bis 4 Tage lang gefriergetrocknet (Alpha 1-4 LD-2, Christ).

Da die Sauerstoffisotopie der Carbonat- und Phosphatfraktion des Knochens in einer linearen Beziehung zueinander stehen sollen (Bryant et al. 1996, Iacumin et al. 1996, 1.5.2), wird dieses Verhältnis als Diageneseindikator für die mineralische Knochenkomponente herangezogen – insbesondere, um Modifikationen an den funktionellen Carbonatgruppen darzustellen.

Zur Überprüfung dieses Zusammenhangs wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit die Extraktion des Knochenphosphats zur Analyse der stabilen Sauerstoffisotope anhand von Protokollen aus der Literatur laborintern etabliert. Da die Methodik jedoch nach erfolgreicher Etablierung schließlich nur an wenigen im Rahmen des Projekts untersuchten Proben angewendet wurde, finden sich Details hierzu im Anhang unter Punkt d, Seiten 322 ff.

3.8 Analyse stabiler Kohlenstoff- und Sauerstoffisotope aus dem strukturellen Carbonat

Nach erfolgter Trocknung wurde das Lyophilisat in 1 ml Reaktionsgefäße (Roth) eingewogen und an das GeoZentrum Nordbayern der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen verschickt, wo die massenspektrometrische Messung durchgeführt wurde. Zur Ermittlung der Isotopenverhältnisse von C und O wurde ein gekoppeltes Analysensystem eingesetzt: Zunächst wurde das deproteinisierte Knochenpulver mit konzentrierter Phosphorsäure (103 %) versetzt. In einem Gasgenerator-System (GasBench II, ThermoScientific) wurde das Carbonat des Knochemineral bei einer Temperatur von 70° C als CO₂ verdampft und mithilfe des Trägergases Helium in das Massenspektrometer (Delta V Plus, ThermoScientific) überführt. Die Verhältnisse der stabilen Isotope von C und O wurden gegen die Standards NBS 19³³ und LSVEC³⁴ gemessen und relativ zum Standard V-PDB (siehe 3.5.2) in δ -Notation und Promille angegeben.

3.9 Analytische Messverfahren zur Untersuchung des Knochenminerals

Die Untersuchung struktureller und chemischer Eigenschaften des Knochenminerals ist eng an die Messmethoden der Materialwissenschaften gekoppelt. Aufgrund der Ähnlichkeit der mineralischen Matrix des Knochens mit geologisch vorkommendem Hydroxylapatit werden nanostrukturelle Analysen des Gewebes häufig in Zusammenarbeit mit geologischen und mineralogischen Einrichtungen durchgeführt, da das für die Untersuchungen nötige apparative Spektrum meist

³³ National Bureau of Standards (heute NIST, National Institute of Standards and Technology) 19, TS-Kalkstein

³⁴ Lithiumkarbonat

über die Anwendungsbereiche biologischer Studien hinausgeht (siehe z.B. Garland et al. 1987, Hiller et al. 2004, Reiche et al. 2003, Trueman et al. 2004).

3.9.1 Fourier Transform Infrarot-Spektroskopie (FTIR)

Die Transmissions-Infrarot-Spektroskopie zählt zu den ältesten und aufgrund der einfachen Durchführbarkeit, der kostengünstigen Analytik und der schnellen Messung am weitesten verbreiteten spektroskopischen Methoden für die Untersuchung von Festkörpern, Flüssigkeiten und Gasen und wird daher auch schon lange für die Analyse von Knochenproben verwendet (Stuart 2004, Trueman 2013). Weitere Details und die Erläuterung des Funktionsprinzips der FTIR-Spektroskopie finden sich im Anhang unter Punkt e, Seite 330 f.

Die FTIR-Messung erfolgte an Knochenpulver, das sowohl in unbehandelter Form als auch deproteiniert (vgl. 3.7) analysiert wurde. FTIR-Spektren unbehandelten Knochens zeigen neben den Signalen der funktionellen Gruppen der mineralischen Matrix auch den Gehalt an organischem Material an.

Für die Messung wurden 200 mg des Knochenpulvers in einem Achatmörser mit 1 mg KBr (Roth), welches aufgrund seiner hygroskopischen Eigenschaften im Trockenschrank aufbewahrt wird, gemischt. Hierbei wurde darauf geachtet, dass die Probe keinen Scherkräften ausgesetzt war, da diese die Raumordnung der Knochenkristallite zerstören und so den Kristallinitätsindex massiv beeinflussen kann (1.5.2, Surovell und Stiner 2001). Das vorbereitete Pulvergemisch wurde anschließend in die zusammengesetzte, absolut trockene Pressform gegeben, möglichst homogen verteilt und danach mit eingesetztem Stößel in eine manuelle Hydraulikpresse (Specac) eingespannt. Bei geschlossenem Belüftungsrund wurde die Pressform für 10 Minuten evakuiert, um die Probe vollständig zu trocknen. Danach wurde langsam Druck aufgebaut, bis eine Presslast von 10 Tonnen erreicht war, welche über 3-5 Minuten gehalten wurde. Durch den Druck verflüssigt sich das KBr und verbindet sich so homogen mit der Probe. Die anschließende langsame Reduktion des Drucks führt zu einer erneuten Verfestigung des KBr-Probengemisches zu einem transparenten Pellet, welches frei von Rissen sein muss, um eine zuverlässige Messung zu gewährleisten.

Der Pressling wurde dann in die entsprechende Halterung in den Strahlengang des Spektrometers (Bruker Equinox 55) eingesetzt. Vor jeder Probenmessung wurde zunächst ein „Leerpressling“ hergestellt, der nur aus KBr bestand und als Referenz für den Untergrund gemessen und anschließend mithilfe der Software Opus (Version 6.5, Bruker) von den Probenspektren subtrahiert wurde. Gemessen wurde im Absorptions-Modus mit einer Auflösung von 4 cm^{-1} und 32 Scans im Wellenzahlbereich von $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$. Sowohl die Messung als auch die nichtlineare Kurvenanpassung mithilfe der Software PeakFit (Jandel Scientific) wurden am Institut für Mineralogie, Petrologie und Geochemie der LMU durchgeführt.

Für die Auswertung der Spektren wurden verschiedene, in der Literatur gängig verwendete Parameter angelegt, um sowohl die Zusammensetzung der mineralischen Matrix als auch die Konservierung der organischen Komponente zu charakterisieren. Jedes Spektrum wurde individuell

nach Merkmalen untersucht, welche eine Abweichung von knochentypischen Referenzspektren erkennen ließen (1.5.2). So wurden anhand der FTIR-Spektren der häufig verwendete Kristallinitätsindex, die durchschnittliche Länge der Knochenkristallite sowie das C/P-Verhältnis errechnet (Übersicht siehe Tabelle 3.6). Ebenso wurde auf auffällige spektrale Abweichungen im Vergleich zu dem typischen Signal für frischen Knochen geachtet, was besonders die mögliche Detektion der für Calcit typischen Bande um 711 cm^{-1} sowie weiterer möglicher Fremdschubstanzen umfasste (z.B. Lee-Thorp & van der Merwe 1991, vgl. 1.5.2).

Abb. 3.6 Anhand der FTIR-Spektren berechnete Charakteristika des Knochens (a.u. = absorbance units).

Parameter	Berechnung	Quelle
Kristallinitätsindex (CI, IRSF)	$(\text{a.u.}[565\text{cm}^{-1}] + \text{a.u.}[605\text{cm}^{-1}]) / \text{a.u.}[595\text{cm}^{-1}]$	Shemesh (1990)
Carbonat/Phosphat-Verhältnis (C/P)	$\text{a.u.}[1415\text{cm}^{-1}] / \text{a.u.}[605\text{cm}^{-1}]$	Pucéat et al. (2004)
Ø Kristallgröße [nm]	$(\text{IRSF}-0,822)/0,048$	Trueman et al. (2008)

3.9.2 Raman-Spektroskopie

Eine detaillierte Beschreibung der Grundlagen der Raman-Spektroskopie findet sich im Anhang unter Punkt f, Seiten 331 ff.

Zur Vorbereitung der Messung wurden mithilfe eines Multifunktionswerkzeugs (Proxxon) mit einer Trennscheibe aus Korund jeweils dünne Scheibchen von ca. 3mm Dicke aus den entfetteten Compactaquerschnitten gesägt. Diese konnten anschließend direkt unter dem konfokalen Raman-Mikroskop (XploRA, Horiba Jobin Yvon) betrachtet und eine für die Messung geeignete Stelle ausgewählt werden. Über die drei verschiedenen Lasertypen des Geräts können verschiedene Anregungswellenlängen zur Erzeugung der Raman-Spektren gewählt werden, jedoch zeigte sich in Vorversuchen, dass sich die Anregung im Nahinfrarotbereich (NIR) bei 785 nm (AlGaAs³⁵-Diodenlaser) am besten für die Analysen eignete.

Kürzere Anregungswellenlängen im grünen und roten Wellenlängenbereich erzeugten zu starke Fluoreszenzartefakte, welche die eigentlichen Spektren teilweise vollständig überlagerten. Die Datenaufnahme erfolgte im Bereich zwischen 200 und 2000 cm^{-1} (Hole 100, Slit 100, Filter 100%). Die Visualisierung sowie die Untergrundkorrektur der Spektren erfolgten durch die Software Lab-Spec (Version 5.0, Horiba Jobin Yvon). Die Messung sowie die Kurvenanpassung und Bandendetektion mithilfe der Software PeakFit (Jandel Scientific) wurden am Institut für Kristallographie der LMU durchgeführt.

Abb. 3.3 zeigt das exemplarische Raman-Spektrum einer historischen Knochenprobe aus der Studie von France et al. (2014) mit der Zuordnung der jeweiligen Banden.

³⁵ Aluminium-Gallium-Arsenid

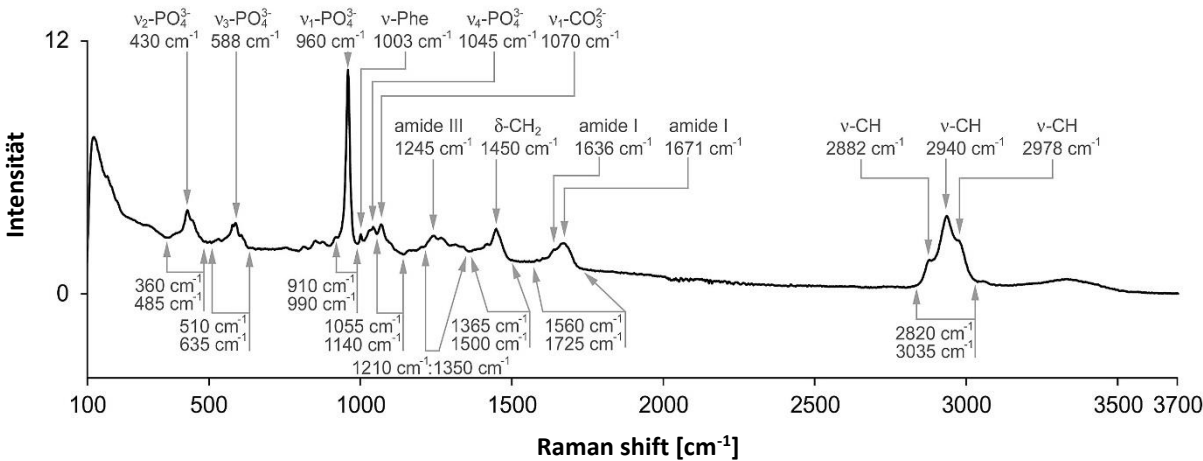


Abb. 3.3 Typisches Raman-Spektrum von Knochen mit Zuordnung der jeweiligen Molekülschwingungen zu den erkennbaren Peaks. Auf diese Weise lassen sich sowohl anorganische als auch organische Komplexe darstellen (aus France et al. 2014).

Für die Auswertung hinsichtlich etwaiger Abweichungen vom Signal für frischen, unveränderten Knochen wurden die in Tabelle 3.7 aufgelisteten Parameter untersucht.

Tab. 3.7 Auswertungsparameter an Raman-Spektren, nach Thomas et al. (2007).

Merkmal	
Absolute Wellenlänge der ν ₁ -Phosphatbande (963 cm ⁻¹ ± 1 cm ⁻¹)	Kationensubstitution: Rotverschiebung
FWHM ³⁶ der ν ₁ -Phosphatbande (963 cm ⁻¹ ± 1 cm ⁻¹)	Fluorid-Eintrag: Blauverschiebung
Bande bei 1085 cm ⁻¹	Moderner Knochen 16 ± 1
	Präsenz von Calcit

3.10 Statistische Auswertungsverfahren

Da zahlreiche statistische Prüfverfahren eine Normalverteilung der Daten voraussetzen, welche jedoch in biologischen Systemen relativ selten auftritt (Field et al. 2012), wurden die einzelnen metrischen Variablen vor weiterführenden Analysen auf eine Normalverteilung getestet. Hierfür wurde dem Shapiro-Wilk-Test aufgrund der höheren Teststärke, auch bei kleineren Stichproben, der Vorzug gegenüber dem Kolmogorov-Smirnov-Test gegeben (Razali und Wah 2011). Die bessere Eignung dieses Tests zeigte sich auch beim Vergleich mit den entsprechenden Boxplots und Histogrammen. Da jedoch nur bei wenigen Merkmalen eine Normalverteilung der Daten bestätigt werden konnte, wurden für die weitere Auswertung nicht-parametrische Prüfverfahren vorgezogen. Verteilungsfreie Tests gelten zwar als weniger sensibel als parametrische Testverfahren, allerdings weisen sie eine höhere Robustizität auf (Dormann und Kühn 2011). Dem potenziellen

³⁶ Full Width Half Max, Halbwertsbreite

Unterschätzen von Zusammenhängen wurde hier der Vorzug gegenüber der Überschätzung eingeräumt.

Da Korrelationsanalysen nach Pearson eine Normalverteilung der Daten voraussetzen, wurden daher, auch für metrische Variablen, stets die Rangkorrelationskoeffizienten Rho (R) nach Spearman berechnet (Field et al. 2012), auch wenn die Rangkorrelation der Daten einen gewissen Informationsverlust bedeuten kann. R kann Werte zwischen -1 und 1 annehmen, wobei -1 und 1 einen vollkommen linearen Zusammenhang der Merkmale wiedergeben, während 0 zumindest eine lineare Korrelation ausschließt (Bortz et al. 1990). Zusätzlich wurde bei jeder Korrelationsanalyse ebenso der Korrelationskoeffizient Tau (T) nach Kendall angegeben, da dieser weniger empfindlich gegen Ausreißerpaare in kleineren Stichprobenumfängen ist (Bortz et al. 1990). Zusammenhänge zwischen nominalen Daten wurden mittels der quadratischen Kontingenz nach Pearson (χ^2) berechnet, wobei die Stärke des Zusammenhangs bei mehr als vier Feldern durch das Maß Cramér's V wiedergegeben wurde. V kann Werte zwischen 0 und 1 annehmen, wobei höhere Werte einen stärkeren Zusammenhang andeuten.

Das Signifikanzniveau (α), also die Irrtumswahrscheinlichkeit zur Widerlegung der Nullhypothese (H_0), wurde auf 5 % festgelegt ($p < 0,05$). Von einem hoch signifikanten Ergebnis wurde bei $p < 0,01$ gesprochen. In der Regel wurde die Signifikanz zweiseitig getestet, wenn mehr als eine Alternativhypothese (H_{1+x}) in Betracht gezogen wurde.

Hinsichtlich der deskriptiven Statistik wurde stets die zweifache Standardabweichung (2σ) als Maß für die Streuung der Werte angegeben. Sie wurde dem oft verwendeten Standardfehler vorgezogen, da dieser die teils große, biologisch bedingte Streubreite der Daten verschleiern kann. Der Standardfehler hängt von der Größe der Stichprobe ab und wird bei größeren Probenumfängen automatisch kleiner (Koschak 2008).

Für die Überprüfung, ob die beobachteten Werte zweier unabhängiger Stichproben aus einer Grundgesamtheit stammen oder ob sie sich signifikant unterscheiden, wurde der Mann-Whitney-U-Test verwendet. Dabei handelt es sich um einen Rangsummentest, welcher die Werte in Form von Rangreihen vergleicht. Bei einem nicht signifikanten Testergebnis kann davon ausgegangen werden, dass kein Unterschied in der zentralen Tendenz der getesteten Stichproben vorliegt. Bei mehr als zwei zu testenden Stichproben wurde der Kruskal-Wallis-H-Test verwendet, welcher demselben Grundprinzip folgt wie der Mann-Whitney-U-Test. Die Vorteile dieser nicht-parametrischen Testverfahren liegen unter anderem darin, dass die analysierten Stichproben nicht denselben Umfang aufweisen müssen (Field et al. 2012).

Um den Einfluss von einer oder mehrerer unabhängiger Variablen auf eine abhängige Variable zu testen, wurden Regressionsanalysen durchgeführt. Diese erfordern keine Normalverteilung und wurden daher einer Diskriminanzanalyse vorgezogen. Bei abhängigen Variablen (Regressanden) mit metrischem Skalenniveau wurde die lineare Regressionsanalyse gewählt, bei binär nominalen Regressanden die logistische Regression (vgl. 5.3.1). Bei der linearen Regressionsanalyse ist die Beurteilung des Bestimmtheitsmaßes R^2 entscheidend, welches Werte zwischen 0 und 1 annehmen kann. Die F-Statistik gibt an, ob R^2 zufällig oder durch den tatsächlichen Zusammenhang der Daten entstanden ist. Ist diese signifikant, kann von einem Zusammenhang ausgegangen werden.

Bei der etwas komplexeren logistischen Regression wurde zunächst die Eignung des Gesamtmodells überprüft, sprich die Güte, mit welcher die gewählten unabhängigen Variablen (Regressoren) das Modell erklären. Hierfür wurde die Signifikanz des 2-fachen Log Likelihood-Wertes (2LL-Wert) getestet. Ebenso wurden die Pseudo-R²-Statistiken in Form von Nagelkerkes-R² beurteilt, welches Werte zwischen 0 und 1 annehmen kann, wobei Werte > 0,5 für eine gute Modelleignung sprechen (Backhaus et al. 2006). Schließlich wurde die Signifikanz der einzelnen getesteten Variablen analysiert, um deren Einfluss auf die abhängige Variable zu untersuchen. Der Signifikanztest folgte der sogenannten Wald-Statistik, welche einer χ^2 -Verteilung entspricht.

Um zu überprüfen, wie gut sich bestimmte diagenetische Merkmale für die Vorhersage veränderter Isotopenwerte des Knochengewebes eignen, wurden Testverfahren, wie sie in der klinischen Diagnostik gebräuchlich sind, herangezogen. Diese folgen dem Satz von Bayes, einem wichtigen Bestandteil der Wahrscheinlichkeitsrechnung (Lesaffre et al. 2007). Dabei handelt es sich um einen binären Klassifizierungstest, bei welchem die Wahrscheinlichkeit von ursächlichen Ereignissen (Antezedenzen) anhand des Auftretens daraus folgender Ereignisse (Konsequenzen) berechnet wird. Dies folgt der Formel:

$$P(D^+/T^+) = \frac{P(T^+/D^+) \cdot P(D^+)}{P(T^+)},$$

wobei D⁺ das Auftreten des untersuchten Merkmals („Isotopenwerte verändert“) und T⁺ einen positiven Testausgang („Indikator zeigt veränderte Isotopenwerte an“) bezeichnen.

Generell ergab die Klassifizierung der Testergebnisse hinsichtlich der Vorhersage veränderter Isotopenwerte anhand der untersuchten Marker die folgende Ausgangssituation:

	Isotopenwerte verändert (D ⁺)	Isotopenwerte nicht verändert (D ⁻)
Test zeigt veränderte Werte an (T ⁺)	Richtig positiv	Falsch positiv
Test zeigt keine Veränderung der Werte an (T ⁻)	Falsch negativ	Richtig negativ

Daraus ließen sich die Sensitivität (richtig positiv/richtig positiv + falsch negativ x 100) sowie die Spezifität (richtig negativ/richtig negativ + falsch positiv x 100) der jeweiligen Indikatoren berechnen, welche die Rate der insgesamt richtig positiv bzw. richtig negativ bewerteten Ergebnisse wiedergeben. Der positive Vorhersagewert (positive predictive value, PPV) beschreibt den Prozentsatz der Proben, welche korrekterweise als isotopisch verändert klassifiziert wurden, während der negative Vorhersagewert (negative predictive value, NPV) die richtig als unverändert eingestuften Proben zusammenfasst (z.B. Parikh et al. 2008). Die Effizienz des getesteten Merkmals für die Vorhersage veränderter Isotopenwerte wurde aus der Summe aus richtig positiv und richtig negativ klassifizierten Proben in Relation zur Gesamtprobenanzahl berechnet. Jedoch ist für die Beurteilung der Effizienz die Prävalenz des Merkmals in der Gesamtstichprobe (veränderte Isotopenwerte/Stichprobe) entscheidend. Bei unrealistisch hohen Prävalenzen wurde das Wahrscheinlichkeitsverhältnis (likelihood ratio, LR) bewertet. Ein LR von 1 bedeutete dabei, dass die

3. METHODEN

Wahrscheinlichkeit für ein positives (LR^+) bzw. negatives (LR^-) Testergebnis bei veränderten und unveränderten Isotopenwerten gleich hoch war, was den entsprechenden Test als nicht sinnvoll für die Vorhersage modifizierter Isotopenwerte erscheinen ließ. Höhere Werte zeigten eine bessere Eignung der Indikatoren an (Parikh et al. 2009).

Alle statistischen Analysen der vorliegenden Arbeit, sofern nicht anders angegeben, wurden mithilfe der Software SPSS (Version 20, IBM) durchgeführt. Die Erstellung von Grafiken erfolgte mit SPSS, Excel (Office 2013, Microsoft) bzw. Illustrator (CS2, Adobe).

4. Ergebnisse

Da sich die vorliegende Arbeit hauptsächlich auf die Charakterisierung früher diagenetischer Veränderungen nach kurzen Liegezeiten fokussiert sowie die Auswirkungen der im Labor künstlich beschleunigten Knochendegradation auf den ursprünglichen Zustand des Gewebes untersucht, wurden neben der summarischen Analyse des gesamten Stichprobenkomplexes auch die einzelnen Probenkollektive getrennt beurteilt.

Das Kapitel wurde thematisch in vier Subgruppen gegliedert, welche zunächst die intrastrukturelle Auswertung der Einzelparameter auf makroskopischer, mikrostruktureller, biomolekularer und nanostruktureller Ebene behandelte (4.1). Im zweiten Abschnitt wurden die analysierten Merkmale bzw. deren Variabilität aufgrund der zumeist mangelnden Normalverteilung der Daten mittels Rangkorrelationsanalysen (siehe 3.10) auf statistische Zusammenhänge hin untersucht (4.2), und schließlich wurde der potenzielle Einfluss intrinsischer und extrinsischer Faktoren auf den Knochenerhalt dargestellt (4.3). Das letzte Kapitel des Ergebnisteils befasste sich im Zuge der schließenden Statistik mit den Auswirkungen der beobachteten Merkmalsveränderungen auf das Verhältnis der stabilen Isotope der organischen und anorganischen Knochenfraktion. Dabei wurden zunächst die Beobachtungen aus den experimentellen Degradationsversuchen, bei welchen die *in vivo* erworbene Ausgangs-Isotopensignatur bekannt war und Veränderungen sicher angesprochen werden konnten, ausgewertet und anschließend auf die *in situ* degradierten Proben extrapoliert.

Die Tabellen mit allen den Berechnungen zugrunde liegenden Rohdaten finden sich im Anhang unter Punkt a, die Aufnahmen der histologischen Schnitte, die Aminosäure-Chromatogramme sowie die FTIR- und Raman-Spektren auf dem beiliegenden Datenträger.

4.1 Merkmalsbeschreibung und Untersuchung diagenetischer Veränderungen auf intrastruktureller Ebene

Der erste Abschnitt des Ergebnisteils widmet sich der deskriptiven Darstellung der Ergebnisse aus den Untersuchungen zur Charakterisierung diagenetischer Veränderungen zunächst der mikrostrukturellen, dann der biomolekularen und schließlich der nanostrukturellen Ebene des Knochens. Dabei wurde auch die Untersuchung von Bodenparametern in die Auswertung mit einbezogen, welche einen Einfluss auf die Dekompositionsrate des Gewebes ausüben könnten (siehe 4.3.1).

4.1.1 Bodenanalyse

Es standen für alle vom Fundkomplex Westfriedhof untersuchten Gräber ($n = 50$) Bodenproben für die Analyse zur Verfügung, welche direkt aus dem Bestattungsbereich entnommen wurden. Bei übereinander liegenden Gräbern (a bzw. b) wurde jeweils eine Erdprobe pro Stratum akquiriert. Die nach der Bestimmung anhand der Munsell Bodenfarbkarten beobachtete Farbverteilung ist in Abb. 4.1 dargestellt.

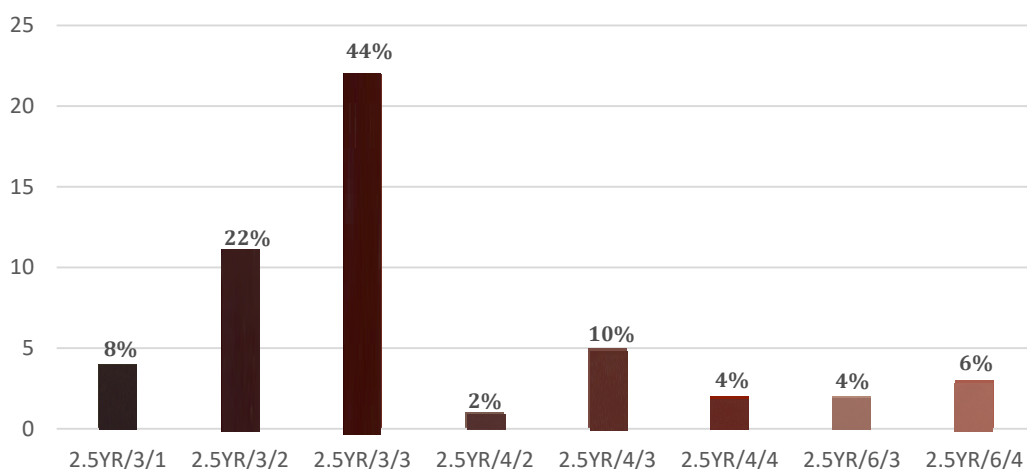


Abb. 4.1 Frequenz der Farbgebung der untersuchten Bodenproben. Die Farbe der Balken entspricht in etwa dem jeweiligen Farbcode der Munsell-Bodenfarbkarten.

Dabei wies die Textur des Bodens in den meisten Fällen einen mehr oder weniger hohen Sandanteil auf. Abb. 4.2 zeigt eine Übersicht über die Häufigkeitsverteilung der charakterisierten Texturtypen.

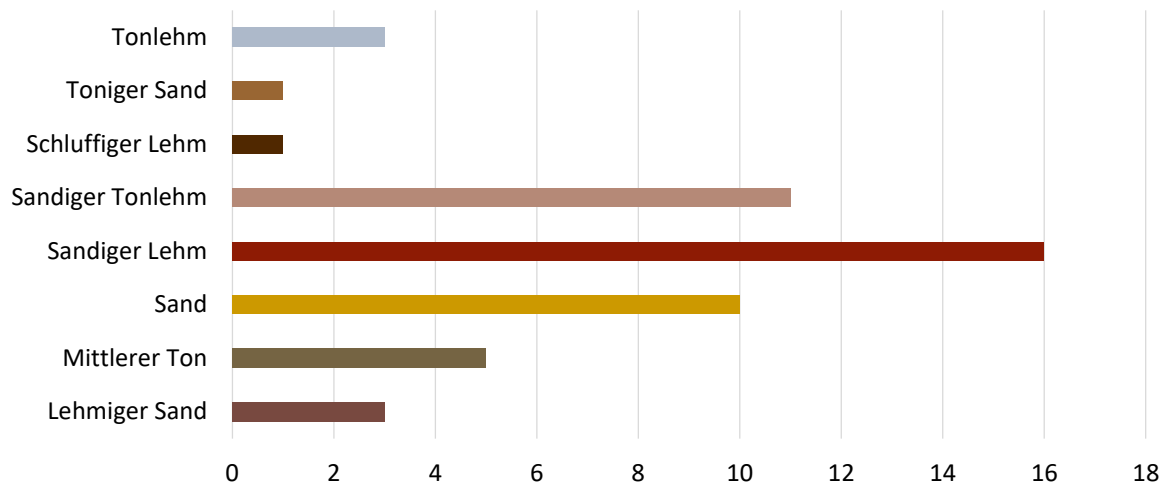


Abb. 4.2 Übersicht über die Verteilung der Texturtypen der Bodenproben. Etwa ein Drittel der untersuchten Proben bestand aus sandigem Lehm.

Die meisten Proben wiesen eine weiche (54 %, $n = 27$) oder lockere (40 %, $n = 20$) Konsistenz auf, nur vereinzelt war das Sediment fest (6 %, $n = 3$).

Die Messungen des pH-Werts zeigten mit einer Variationsbreite zwischen pH 5,8 und pH 8,4 eine relativ weite Spanne. Im Median befanden sich die Werte bei pH 7,6 und damit im neutralen bis leicht alkalischen Milieu.

Der Großteil der analysierten Proben wies einen hohen Carbonatgehalt auf (54 %, $n = 27$), 20 % ($n = 10$) zeigten eine mäßige Reaktion mit Säure und wurden danach als mittelmäßig carbonathaltig eingeschätzt. 26 % ($n = 13$) der Erdproben reagierten kaum mit der zugegebenen Säure, was auf einen niedrigen Carbonatanteil im Boden hinweist. Dass Proben gar keine Reaktion zeigen und damit kein Carbonat enthalten, wurde in keinem der Fälle beobachtet.

Überraschenderweise konnte lediglich zwischen Bodenfarbe und -konsistenz eine hoch signifikante Korrelation nachgewiesen werden (χ^2 nach Pearson, $\chi^2 = 0,000$, Cramer's V = 0,728), zwischen allen anderen Bodenparametern bestand kein statistisch signifikanter Zusammenhang.

Auch die Färbung der Böden ließ nicht auf die Textur schließen. So ist die am häufigsten beobachtete Farbe 2.5YR/3/3 bei allen Texturarten mit Ausnahme von Tonlehm und tonigem Sand anzutreffen. Die helleren Farben, 2.5YR/6/3 und 2.5YR/6/4 waren nur bei Sand und sandigem Lehm vertreten. Jedoch zeigten sich die meisten Texturtypen in ihrer Färbung variabel und konnten anhand ihrer Farbe auch nicht sinnvoll in Großgruppen wie Tone oder Lehme eingeteilt werden.

Auch im Hinblick auf die Verteilung der gemessenen pH-Werte über die Bodentextur-Typen ließ sich kein eindeutiges Bild entwerfen, da bei einigen Bodenarten eine sehr starke Streuung beobachtet werden konnte.

Ebenso bestand kein klarer Zusammenhang zwischen dem gemessenen pH-Wert des Bodens und dem Carbonatgehalt. Jedoch ließ sich feststellen, dass bei pH-Werten im sauren Bereich ($< 7,0$) nur mäßige bis hohe Carbonatkonzentrationen anzutreffen waren, während ein geringer Carbonatgehalt erst bei höheren pH-Werten auftrat.

4.1.2 Makro- und mikrostrukturelle Diagenesemerkmale

4.1.2.1 Makroskopisch beobachtbare Merkmale früher Dekompositionsphasen

Probenkollektiv Westfriedhof: makroskopische Besonderheiten der Frühdiagenese bei Erdbe- stattung

Bei der makroskopischen Begutachtung der Proben fielen einige Charakteristika auf, welche bei archäologischen Proben in der Regel nicht beobachtet werden.

An den Knochen fanden sich zum Teil größere Bereiche mit deutlichen weißen Ablagerungen, welche als Fettwachs identifiziert wurden, jedoch war in den meisten Fällen eher das Knochenmark von Adipocirebildung betroffen (12 %, n= 6, siehe Abb. 4.3).

In einem Fall (WF 10) war das Knochenmark vollständig in eine schwarze, erdige Masse umgewandelt worden.



Abb. 4.3 Adipocirebildung am proximalen Ende einer Tibia (WF 14b, links). Bei 8% der untersuchten Knochen war das Knochenmark in Fettwachs umgewandelt (rechts, ebenfalls WF 14b).

Taphonomieexperiment Bayerischer Wald: Frühdiagenese unbestatteter Kadaver

Die im Frühsommer auf dem Gelände des Nationalparks Bayerischer Wald im Zuge einer wildbiologischen Studie ausgelegten Rehkadaver waren bereits nach zwei bis drei Wochen vollständig skelettiert. Details zu der Aktivität von Insekten und Wirbeltieren in den Phasen der Weichgewebszersetzung sowie der exakt protokollierte Masseverlust des Kadavers über die Zeit finden sich bei Fiderer (2011). Die Auswertung der Bilder von den Wildkameras zeigte, dass die Kadaver von Reh 2, 3 und 4 nicht durch Aasfresser genutzt, sondern lediglich von Insekten besiedelt wurden. Jedoch war die Rate des relativen Fleischverlustes an diesen Tieren vergleichbar mit den

übrigen Individuen (siehe 2.4), da an allen Standorten die Madenkonkurrenz hinsichtlich der Kadavernutzung enorm war. Sechs der zehn Rehe trugen zum Zeitpunkt des Todes ihre Winterdecke, bei den übrigen war der Fellwechsel größtenteils abgeschlossen. Das lange, dichte Haar des Winterfells verhielt sich im Laufe der Dekomposition anders als das kurze Sommerfell, welches insgesamt länger am Körper verblieb, während das Winterfell innerhalb von acht bis 10 Tagen ausfiel und um den Kadaver herum verteilt war (vgl. Abb. 4.4). Jedoch hatte auch die Beschaffenheit der Decke keinen Einfluss auf die Rate des Fleischverlustes. Die Skelettierungsgeschwindigkeit folgte teilweise der temperaturabhängigen Formel von Vass (2001),

$$y = \frac{1285}{x}$$

Legt man für den ersten Auslegungszeitraum (Reh 1 – 5) vom 06.05. bis zum 26.05.2011 die durchschnittliche Tagestemperatur von 13,8°C³⁷ zugrunde und rechnet die auf Menschen angepasste Formel (angenommenes Durchschnittsgewicht 75 kg) auf den leichtesten Jährling (Reh 2, 19,2 kg) sowie den schwersten Bock (Reh 3, 30,8 kg) um, erhält man eine durchschnittliche Skelettierungsdauer von 24 bzw. 38 Tagen.



Abb. 4.4 Unterschiede in der Dekomposition zwischen Kadavern mit Sommerdecke (links) und Winterdecke (rechts). Innerhalb weniger Tage waren die Haare des Winterfells vollständig ausgefallen und bildeten durch die dicke Unterwolle einen dichten Filz um den Körper (Bilder aus Fiderer 2011).

Für den zweiten Auslegungszeitraum vom 06.06. bis zum 26.06.2011 (Reh 6 – Reh 10) ergibt sich bei durchschnittlich 12,9°C eine Dauer von 23 bis 34 Tagen bis zur vollständigen Dekomposition des Weichgewebes. Für die leichteren Rehe stellt die Formel damit eine relativ gute Annäherung dar, während der theoretische Dekompositionszeitraum für die schweren Kadaver als zu lang eingeschätzt wird. Die Geschwindigkeit des Fleischverlustes korrelierte dabei nicht mit dem Ausgangsgewicht des Rehkörpers. Die längste Dekompositionsdauer zeigte Reh 10, ein mit 17,4 kg sehr leichter Jährling. Dagegen erfolgte der rapideste Fleischverlust bei Reh 9, dem mit 25,3 kg zweitschwersten Bock der Serie. Die Aasfresseraktivität war mit der Nutzung der jeweiligen Kadaver durch Rotfuchs (*Vulpes vulpes*) bzw. Dachs (*Meles meles*) annähernd vergleichbar, und auch

³⁷ Daten nach Wetterstation Waldhäuser

das Liegemilieu in lichtem Buchenwald bzw. feuchtem Totholzbestand relativ ähnlich. Der schwerste Bock (Reh 3, 30.8 kg) sowie der leichteste Jährling (Reh 8) zeigten ähnliche Dekompositionsraten.

Beim ersten Beprobungsbesuch der Depositionsstellen am 27.07.2011 (72 bzw. 51 Tage nach der Auslegung der Kadaver) konnten bei 7 Individuen noch Metatarsalia bzw. Metacarpalia akquiriert werden, bei den restlichen 3 musste auf andere Skelettelemente zurückgegriffen werden, da die Knochen stark verstreut waren und keine Mittelhand- oder Mittelfußknochen mehr aufgefunden werden konnten (Tibia bzw. Humerus, vgl. Tabelle 2.11 unter 2.4). Die beprobten Knochen waren mehrheitlich äußerlich unbeschädigt und zeigten keine Anzeichen von Verwitterung nach dem Schema von Behrensmeyer (1978). Lediglich die Probe von Reh 6 wies feine longitudinale Risse und damit Verwitterungsstufe 1 auf, der Knochen von Reh 1 zeigte am proximalen Ende Spuren von Tierfraß (Tabelle 4.1). Bei der zweiten Beprobung am 10.11.2011 (157 bzw. 178 Tage nach der Auslegung) war es bereits schwierig, jeweils noch einen Langknochen an den Ablageplätzen aufzufinden. Einer der Knochen zeigte deutliche Beschädigungen durch Tierfraß in Form von Annagen im proximalen Epiphysenbereich (Reh 4), bei drei weiteren (Reh 1, Reh 7, Reh 10) war die Diaphyse mehr oder weniger stark zersplittert. Bei Reh 1 und Reh 7 kann nicht ausgeschlossen werden, dass dieser Befund eine Folge des für den Tod ursächlichen Verkehrsunfalls war, Reh 10 jedoch wurde durch einen Schuss in den Thorax erlegt. Die Zersplitterung des Knochens dürfte somit auf die Aktivität von Wildschweinen (*Sus scrofa*) zurückgeführt werden.

Auf fünf der Proben hatte sich weiterhin ein ausgedehnter Algenbewuchs ausgebreitet. Anzeichen von Verwitterung (nach Behrensmeyer 1978) waren in vier Fällen erkennbar, welche sich ausschließlich als longitudinale Risse in der Diaphyse der Knochen äußerten (Tabelle 4.1).

Beim späteren Aufsägen der Knochen im Zuge der Probenentnahme für weitere Analysen fanden sich in der Markhöhle von 3 Knochen des ersten und 2 Knochen des zweiten Beprobungsintervalls zahlreiche Fliegenmaden (Abb. 4.5).

Tabelle 4.1 fasst alle makroskopisch beobachtbaren taphonomischen Charakteristika an den untersuchten Skelettelementen der Rehe in einer Übersicht zusammen.

Tabelle 4.1 Übersicht über den makroskopischen Zustand der akquirierten Skelettelemente nach beiden Beprobungsintervallen.

51 (Reh 1 – 5) bzw. 72 Tage (Reh 6 – 10) nach Auslegung

Probe	Skelettelement	Beschädigung	Verwitterungsgrad	Maden in Markhöhle
Reh 1	Tibia	Tierfraß	0	x
Reh 2	Metacarpus	-	0	x
Reh 3	Humerus	-	0	-
Reh 4	Metacarpus	-	0	-
Reh 5	Metatarsus	-	0	-
Reh 6	Humerus	-	1	x
Reh 7	Metatarsus	-	0	-
Reh 8	Metacarpus	-	0	-
Reh 9	Metatarsus	-	0	-
Reh 10	Metatarsus	-	0	-

157 (Reh 1 – 5) bzw. 178 Tage (Reh 6 – 10) nach Auslegung

Probe	Skelettelement	Beschädigung	Verwitterungsgrad	Maden in Markhöhle
Reh 1	Femur	prox. und dist. Ende fehlen, Tierfraß	1 (Risse)	-
Reh 2	Metacarpus	Algenbewuchs	0	-
Reh 3	Radius und Ulna	-	0	-
Reh 4	Tibia	dist. Ende fehlt, Tierfraß	0	x
Reh 5	Humerus	-	1 (Risse)	x
Reh 6	Radius	Algenbewuchs	1 (Risse)	-
Reh 7	Tibia	Algenbewuchs, dist. Ende fehlt	1 (Risse)	-
Reh 8	Metacarpus	Algenbewuchs	0	-
Reh 9	Metatarsus	Algenbewuchs	0	-
Reh 10	Langknochenfragmente (Tibia u.a.)	Tierfraß	0	-



Abb. 4.5 Fliegenmaden in der Markhöhle einer mechanisch intakten Tibia (Reh 1).

4.1.2.2 Histologische Untersuchungen

Mit Ausnahme der 10 frischen Rehknochen, die während der Auslegung gewonnen wurden, sowie der Proben aus der experimentellen chemischen Degradation ($n = 33$) wurden alle restlichen 123

Proben der Probenkollektive Westfriedhof, archäologische Knochen, Rehknochen und experimentelle bakterielle Degradation histologisch untersucht.

Biotischer Knochenabbau

Die Auswirkungen mikrobieller Aktivität auf die Dekomposition der Knochenmikrostruktur wurden anhand des Oxford Histologischen Indexes (OHI) über den gesamten Knochenquerschnitt beurteilt und nicht getrennt nach ihrem periostalen, intermediären und endostalen Erscheinungsbild bewertet, da der mikrostrukturelle Gesamterhaltungszustand entscheidend für die Korrelation mit den aus Kollagen und Mineral ermittelten Isotopenwerten ist. Denn auch für die in dieser Arbeit angewandten Isotopenanalysen wurde der Knochen in seiner Gesamtheit analysiert und nicht nach Bereichen getrennt untersucht. Abb. 4.6 zeigt die ermittelte Verteilung des histologischen Erhaltungszustands aller untersuchter Proben, aufgetrennt nach Stichprobenkollektiven.

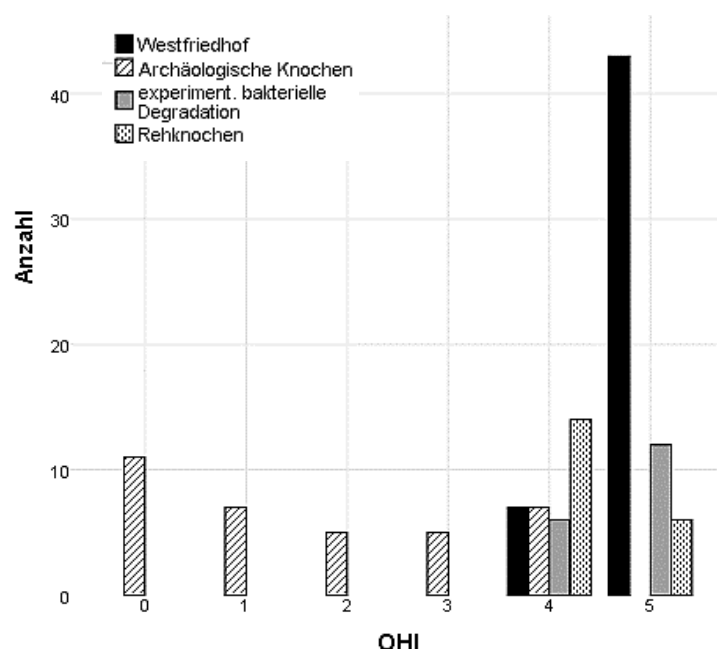
Die analysierten Knochen des Fundkomplexes Westfriedhof spiegelten insgesamt die Auswirkungen eines beginnenden mikrobiellen Befalls wider. 86 % der Proben ($n = 43$) wiesen einen OHI-Wert von 5 auf, also eine weitgehend intakte Mikrostruktur mit höchstens vereinzelt auftretenden Bohrkanälen bzw. vergrößerten Osteozytenlakunen.

Mit 14 % ($n = 7$) war der Anteil an Proben mit immer noch gut erhaltener, aber bereits zu 5-15 % mikrobiell zerstörter Bereiche wesentlich weniger häufig vertreten. Schlechtere Erhaltungsklassen konnten hier nicht beobachtet werden.

Dabei konnte festgestellt werden, dass die Verteilung der Bohrkanäle bei den Proben vom Westfriedhof in den meisten Fällen (52 %) von den Havers'schen Kanälen und Osteozytenlakunen im inneren Bereich des Knochenquerschnitts ausging, während sich bei 30 % der Proben die Bohrkanäle auf den periostalen Bereich konzentrierten. Der endostale Bereich war nur wenig von bakterieller Zerstörung betroffen.

Im Fall der archäologischen Proben ergab sich ein umgekehrtes Bild. Keine der Proben konnte der OHI-Klasse 5 zugeordnet werden. Bei der Mehrzahl der Knochen (31,4%, $n = 11$) war die Mikrostruktur jedoch vollkommen durch bakterielle Aktivität zerstört (OHI-Klasse 0).

Abb. 4.6 Verteilung der histologischen Erhaltungsgrad-Klassen nach dem Oxford Histologischen Index zur Charakterisierung mikrobieller Destruktion der Knochenmikrostruktur in den einzelnen Stichprobenkomplexen.



Die Repräsentierung der Proben in den Stufen zwischen OHI-Klasse 1 und 4 folgte einer exakt bimodalen Normalverteilung.

Aufgrund der hohen Anzahl an Proben mit vollkommen zerstörter Mikrostruktur lässt sich schwer abschätzen, von welchem Bereich des Knochenquerschnitts die ursprüngliche bakterielle Invasion ausging. Jedoch ließen jene Proben, bei welchen noch Reste intakter Mikrostruktur sichtbar waren, erkennen, dass meist der innere Compacta-Bereich stärker von Zerstörung betroffen war als der endostale oder periostale Rand.

Der Unterschied in der Merkmalsverteilung der beiden bodengelagerten Stichprobensets war statistisch hoch signifikant (Mann-Whitney-U-Test, $p = 0,000$).

Die vergleichende Untersuchung der Knochen der unbestatteten Rehkadaver auf bakterielle Zerstörungsmuster zeigte, dass bereits 14 der 20 Proben einen OHI-Wert von 4 aufwiesen, lediglich 6 Proben hatten noch eine durch Bakterien weitgehend unversehrte Mikrostruktur. Dabei schien die Ausbreitung der Bohrkanäle erneut mehrheitlich (75 %) von den inneren Bereichen des Knochenquerschnitts auszugehen. Die Läsionen zeigten sich als fokale Destruktionen, welche sich von den Osteocytenlakunen aus in das umliegende Gewebe ausbreiteten (Abb. 4.7).

Bei den Knochen des ersten Beprobungszeitraums wies immerhin bereits die Hälfte deutliche Zeichen mikrobieller Aktivität auf (OHI 4 bei 5 von 10 Proben), und nach dem zweiten Beprobungsbesuch zeigten fast alle untersuchten Knochen deutliche bakterielle Zerstörungsmuster (OHI 4 bei 9 von 10 Proben).

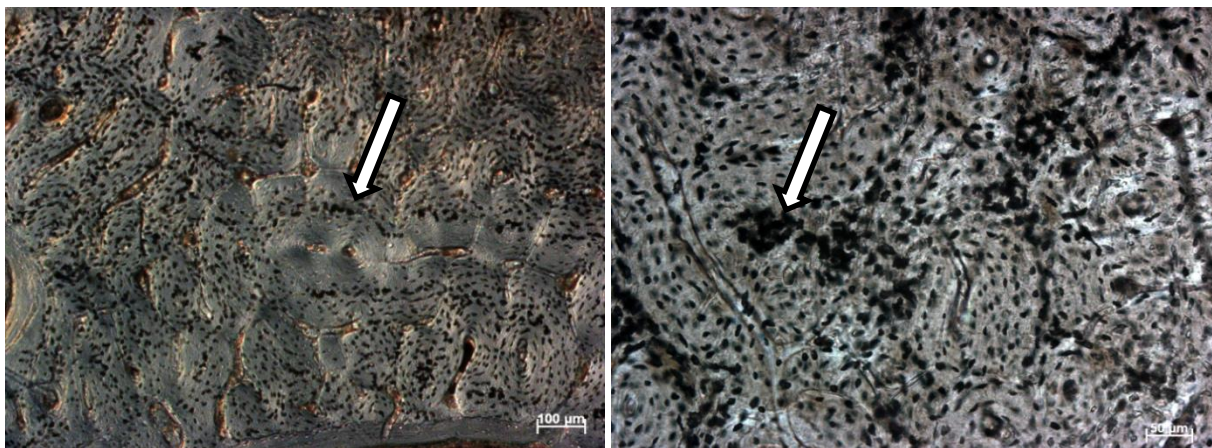


Abb. 4.7 Mikrobielle Bohrkanäle im Knochenquerschnitt von Reh 2, 72 Tage (links, Differenzialinterferenzkontrast, 100x) und Reh 8, 51 Tage (links, Helfeld, 200x).

Bei den unter Laborbedingungen mit aeroben und anaeroben Mikroorganismen angeimpften frischen humanen Knochenproben diente die histologische Untersuchung in erster Linie der Kontrolle, ob die Bakterien in den Knochen eindringen, in diesem wachsen und mikrostrukturelle Zerstörungsmuster hervorrufen konnten, welche schließlich Auswirkungen auf das Verhältnis der stabilen Isotope des Gewebes haben könnten.

4. ERGEBNISSE

Bei der aeroben Inkubation zeigte sich bei den mit *Pseudomonas fluorescens* angeimpften Proben ein nach etwa einer Woche einsetzender Schimmelbewuchs, welcher sich im Laufe der Inkubationszeit auf die meisten Proben ausbreitete und bei Femur 3 besonders intensiv ausgeprägt war. Auch die Kontrollen waren hiervon betroffen (siehe Abb. 4.8).

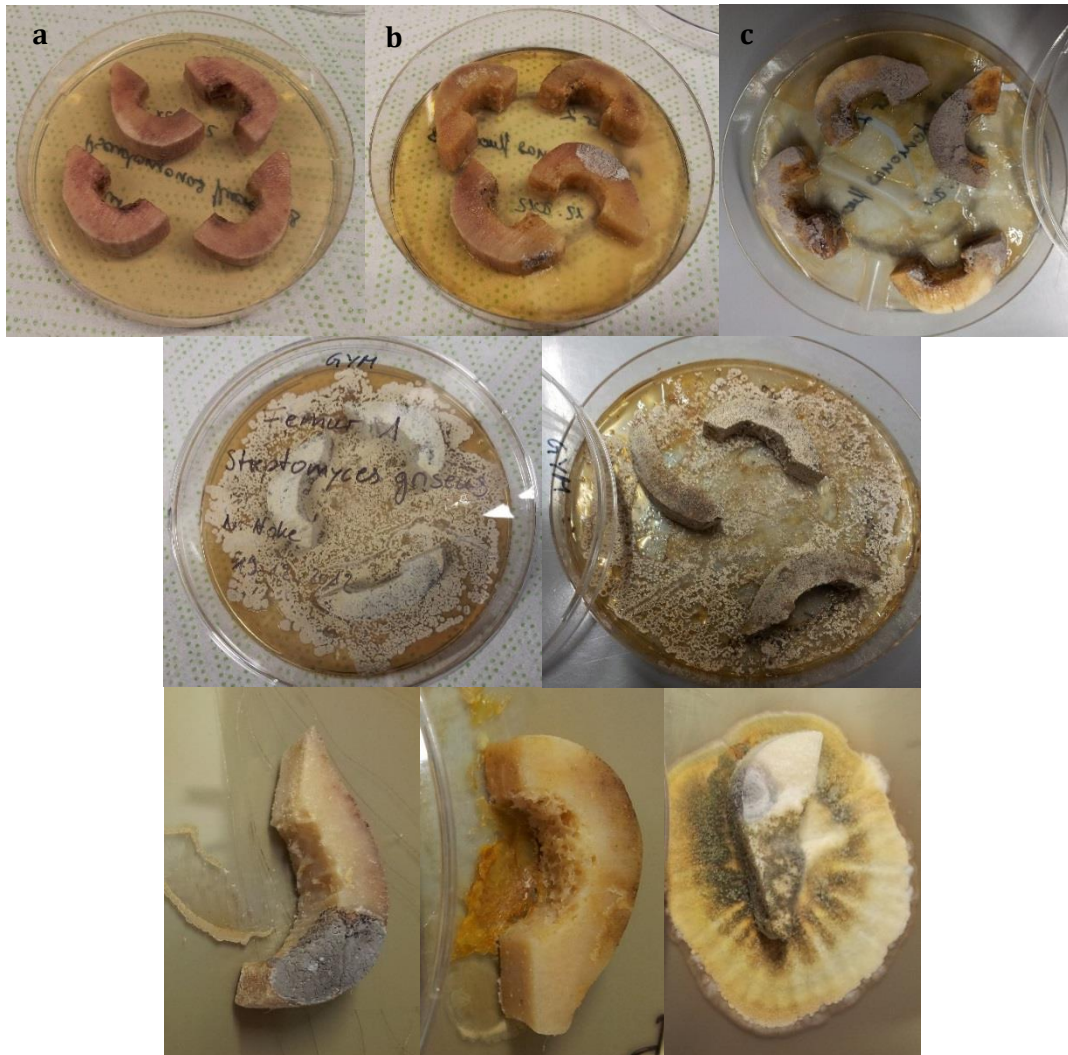


Abb. 4.8 Erscheinungsbild der Agarplatten mit den angeimpften Knochenstücken über die aerobe Inkubationszeit. Oben: Femur 2, *Pseudomonas fluorescens*, drei Tage nach Ausplattierung (a), 27 Tage nach Ausplattierung (b) und nach 9-monatiger Inkubation (c). Etwa eine Woche nach der Auslegung der Knochen zeigte sich auf einigen Proben Schimmelbildung. Mitte: Femur 1, *Streptomyces griseus*, zwei Wochen nach der Inokulation (links) und nach 9-monatiger Inkubationszeit (rechts). Die mit *S. griseus* beimpften Knochen zeigten keine Kontamination durch andere Bakterien oder Schimmel. Unten: Auch die drei unbeimpften Kontrollen (von links nach rechts: Femur 1, 2 und 3) wiesen am Ende der Inkubationszeit Kontaminationen durch Fremdkeime oder Schimmel auf.

Da die Kontaminationen von den Knochen selbst ausgingen und nicht vom Medium, werden die Verunreinigungen nicht auf unsteriles Arbeiten während der Auslegung, sondern auf in den Knochen eingeschleppte Sporen zurückgeführt, welche durch die Bestrahlung mit kurzwelligem UV-Licht nicht abgetötet werden konnten und während der Inkubation schließlich aufwuchsen. Keine Kontaminationen mit Fremdkeimen oder Schimmel wurden bei den mit *Streptomyces*

griseus beimpften Knochen festgestellt, was auf die effektive biozide Wirkung der von dem Bakterium produzierten Antibiotika zurückzuführen sein dürfte.

Bei der anaeroben Inkubation konnte deren Verlauf nur schwer überwacht werden, da die Proben in der Anaerobierbox nicht eingesehen werden konnten. Beim Öffnen der Box am Ende des 6-monatigen Inkubationszeitraums wurde jedoch deutlich, dass sich im Fall der anaeroben bakteriellen Inokulation ebenfalls Kontaminationen vermutlich fakultativ anaerober Keime oder Schimmel an den Proben festgesetzt hatten (Abb. 4.9). Auch hier waren zwei der drei Kontrollen betroffen, jedoch in einem relativ geringen Ausmaß.

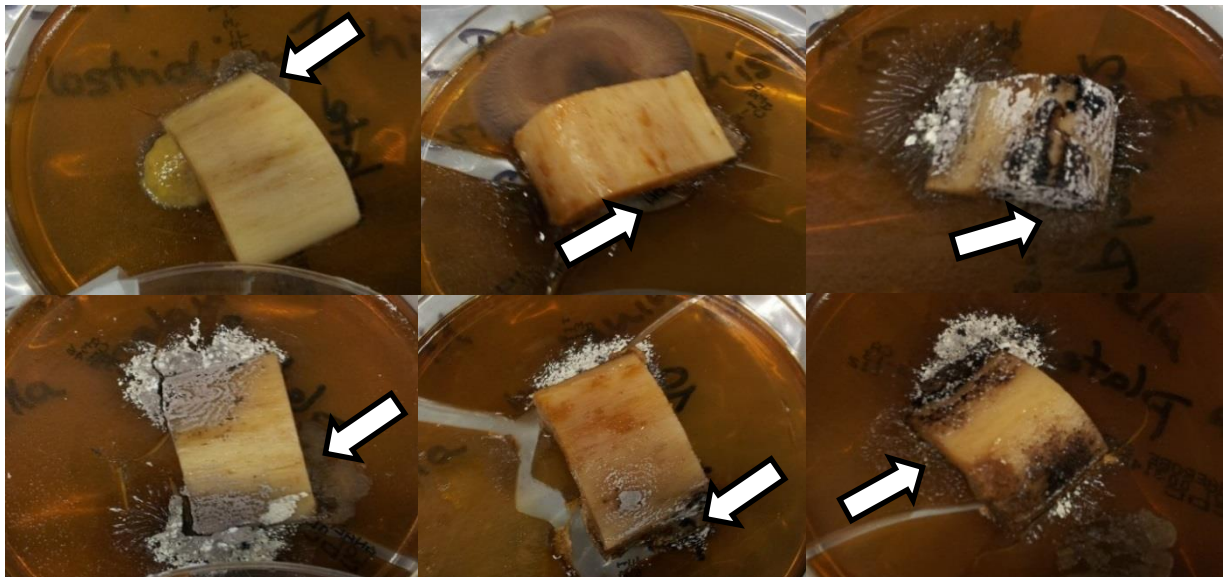


Abb. 4.9 Erscheinungsbild der mit anaeroben Bakterien angeimpften Femurproben nach 6-monatiger Inkubationszeit und nach erfolgter Gamma-Bestrahlung. Obere Reihe: *Clostridium histolyticum*, untere Reihe *Prevotella melaninogenica* (Femur 1 bis 3 jeweils von links nach rechts). Die Pfeile bezeichnen die mutmaßlich von den angeimpften Stämmen hervorgerufenen Kolonien.

Die in Abb. 4.9 mit Pfeilen gekennzeichneten gräulichen bzw. grau-weißen Kolonien werden mit *Clostridium histolyticum* bzw. *Prevotella melaninogenica* in Verbindung gebracht.

Angeichts der langen Inkubationszeiten war es schwierig, Kontaminationen vollkommen zu vermeiden.

Da es in der Studie jedoch nicht in erster Linie darum ging, die Bakterien in Reinkultur anzuziehen, sondern die Auswirkungen der Besiedlung von Knochen mit Mikroorganismen zu untersuchen, wurde der Befall mit Schimmel nicht als schwerwiegende Komplikation angesehen und die Auswertung wurde fortgesetzt.

Insgesamt wiesen bei der histologischen Untersuchung 12 der 18 Proben einen OHI-Wert von 5 auf, zeigten also keine oder nur vereinzelte Bohrkanäle. Darunter waren alle 6 Kontrollen. Bei den mit aeroben Keimen beimpften Knochen zeigte lediglich eine Probe einen OHI-Wert von 5, die am stärksten von Schimmel betroffene Probe Femur 3, *P. fluorescens*. Bei den restlichen waren bereits

4. ERGEBNISSE

großflächigere Zerstörungsmuster erkennbar (OHI-Wert 4), welche verdeutlichten, dass die bakterielle Aktivität einen sichtbaren Einfluss auf den Knochen hatte.

Die Proben des anaeroben Degradationsversuchs zeigten bei der Auswertung ein genau umgekehrtes Bild. Hier wiesen alle Proben bis auf eine Ausnahme (Femur 2, *P. melaninogenica*) einen OHI-Wert von 5 auf.

Anders als bei den bodengelagerten Proben sowie den unbestatteten Rehkadavern waren bei den mit Bakterien beimpften Knochen die Bohrkanäle eher am periostalen und endostalen Rand des Querschnitts lokalisiert bzw. gleichförmig über den gesamten Querschnitt verstreut (Abb. 4.10). Das geringere Auftreten von Bohrkanälen in den mit anaeroben Bakterien beimpften Knochen im Vergleich zu den mit aeroben Keimen inokulierten Proben könnte auf die drei Monate kürzere Inkubationszeit zurückzuführen sein, denn auch bei OHI-Werten von 5 waren in den meisten Proben vereinzelte Bohrkanäle auszumachen.

Jedoch bestanden gegen eine längere Inkubationszeit Bedenken hinsichtlich der Gasentwicklung innerhalb der Anaerobierbox, weshalb die Inkubation nach 6 Monaten abgebrochen wurde.

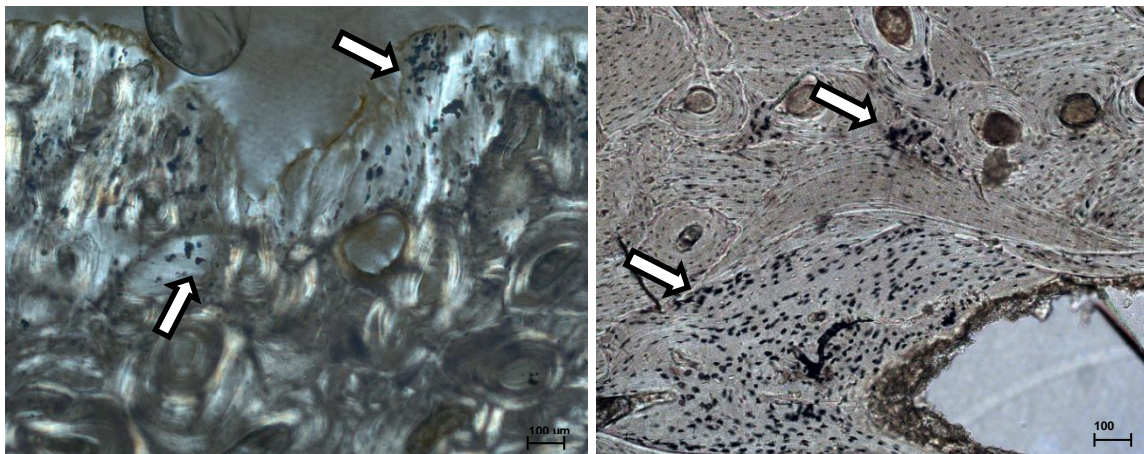


Abb. 4.10 Bakteriell induzierte fokale Läsionen in den intentionell beimpften frischen Knochenproben. Links: Aerobe bakterielle Degradation (Femur 2, *S. griseus*, Polfilter, 100x). Rechts: Anaerobe bakterielle Degradation (Femur 2, *P. melaninogenica*, Hellfeld, 100x).

Huminstoffeinwanderung und andere organische Kontaminationen

Da sich die Infiltration von Huminstoffen in den Knochen potenziell erheblich auf den Kollagenerhalt bzw. den Extraktionserfolg des Kollagens auswirken kann (siehe 1.3.3), wurde bei der histologischen Analyse der Proben auch der Einfluss von Huminstoffen auf das Gewebe erfasst.

Dabei wurde die Einwanderung von Huminstoffen in das Knochengewebe nur für die bodengelagerten Proben überprüft (n = 75), da Huminstoffe, mit Ausnahme der internen Humifizierung durch knocheneigene organische Bestandteile, aus dem Bestattungssediment in den Knochen infiltrieren. Anhand der histologischen Bilder wurde die durch die Braunfärbung des Gewebes sicht-

bare Eindringtiefe der Huminstoffe vom periostalen Rand der Schnitte für jede Probe digital ausgemessen. Dabei wurde deutlich, dass bei der Mehrzahl der Proben (74,1 %) lediglich der periostale Rand bis zu einer Tiefe von 100 µm von einer Einwanderung von Huminstoffen betroffen war. In 12,9 % der Fälle drangen die Huminstoffe bis 500 µm weit in das Innere des Knochens vor, und ebenso 12,9 % zeigten eine noch tiefer gehende Braunfärbung des Gewebes. Die beobachtete Verteilung zwischen den Stichproben unterschied sich dabei statistisch signifikant (Mann-Whitney-U-Test, $p = 0,018$). Es konnte festgestellt werden, dass im Probenkollektiv Westfriedhof Huminstoffe im Schnitt tiefer eingedrungen waren als bei den archäologischen Knochen (siehe Abb. 4.11).



teilung zwischen den Stichproben unterschied sich dabei statistisch signifikant (Mann-Whitney-U-Test, $p = 0,018$). Es konnte festgestellt werden, dass im Probenkollektiv Westfriedhof Huminstoffe im Schnitt tiefer eingedrungen waren als bei den archäologischen Knochen (siehe Abb. 4.11).

Abb. 4.11 Huminstoffeinwanderung in die Probe WF 34 (Liegezeit 33 Jahre). Besonders häufig wurde eine Auflösung der periostalen Strukturen beobachtet, welche dann vollständig durchgefärbt waren.

Huminstoffe waren nicht die einzige Quelle anhand histologischer Schnitte festgestellter organischer Kontaminationen in den Knochen, welche durch ihren Beitrag an Kohlenstoff und Stickstoff einen Einfluss auf die Ergebnisse der Analyse stabiler Isotope haben können. Die im Folgenden beschriebenen Merkmale wurden jedoch ausschließlich bei den frühdiagenetisch veränderten Proben des Kollektivs Westfriedhof festgestellt. Dabei fanden sich vereinzelt Reste körpereigener organischer Substanz wie die Überreste des vaskulären Systems in den Havers'schen Kanälen oder die physiologischen Hohlräume ausfüllendes Fettwachs, welches auch nach fünftägiger Entfettung mit Diethylether im Soxhlet und Reinigung im Ultraschallbad nicht aus den Knochen entfernt werden konnte (Abb. 4.12).

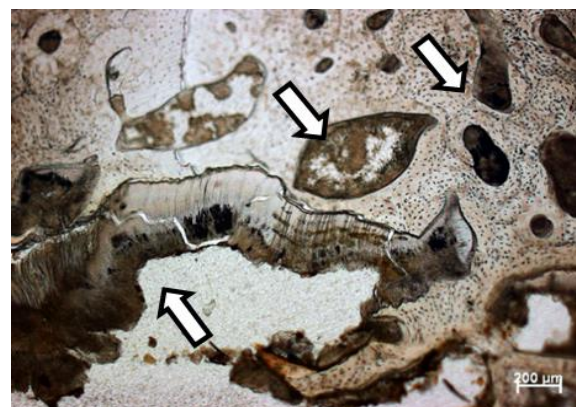
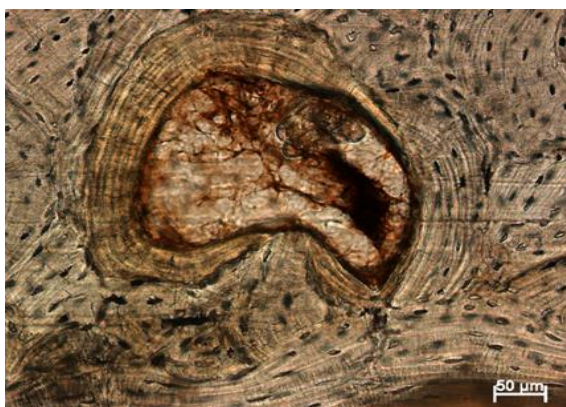


Abb. 4.12 Organische Reste in den Knochen mit Liegezeiten unter 60 Jahren. Links: Überreste des vaskulären Systems in den Havers'schen Kanälen (WF 14b). Rechts: Fettwachs entlang des endostalen Randes und in den physiologischen Hohlräumen der Compacta (WF 3).

Aber in einigen Fällen konnte auch exogenes organisches Material detektiert werden. So wiesen 10% der Proben ($n = 5$) eine Kontamination mit Pilzsporen bzw. Fruchtkörpern von Pilzen auf,

4. ERGEBNISSE

welche nicht auf die Randbereiche beschränkt waren, sondern auch in Hohlräumen im Inneren des Querschnitts beobachtet wurden (Abb. 4.13).

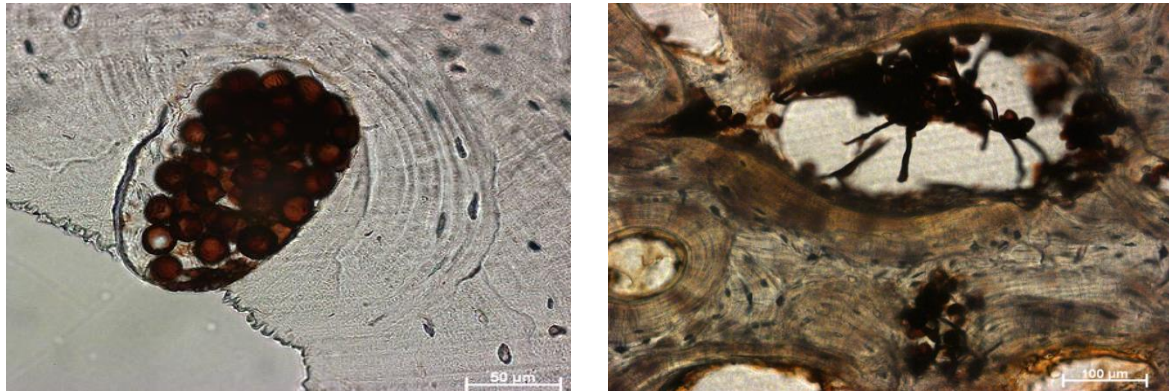


Abb. 4.13 Pilzsporen (links) bzw. mutmaßlich keimende Sporen (rechts) innerhalb der Compacta der Proben WF 31 (Hellfeld, 400x) und WF 37 (Hellfeld, 200x).

Bei zwei Proben (WF 10, WF 20b) fanden sich außerdem Konglomerate von wurmförmigen Organismen in den physiologischen Lakunen der Compacta (Abb. 4.14). Da die entsprechenden Knochen äußerlich unbeschädigt waren, mussten diese über die *Foramina nutritia* in das Innere der Knochen eingedrungen sein. Bei einer der Proben, in welcher mutmaßliche Würmer gefunden wurden (WF 20b), waren ebenso zahlreiche Pilzsporen im Inneren des Querschnitts beobachtet worden.



Abb. 4.14 Wurmförmige Organismen in den Havers'schen Kanälen der Proben WF 10 (links) und WF 20b (rechts). Aufnahme jeweils Hellfeld, 400x.

Rekristallisation und Sekundärmineralisation

Im histologischen Bild zeigten sich nicht nur organische Degradationsartefakte, auch konnten diverse Veränderungen der mineralischen Komponente ausgemacht werden. Außer bei den Proben

der experimentellen bakteriellen Degradation waren alle mikrostrukturell untersuchten Probenkomplexe von mineralischen Alterationen betroffen.

Dabei zeigten sich diese im Fall der Knochen vom Westfriedhof hauptsächlich als periostale Auflösungen des Minerals und diffuse Rekristallisation (12 %, n = 6). Nur bei einer Probe (WF 18) wurde eine authigene Kristallbildung im Inneren des Knochenquerschnitts vermutet (Abb. 4.15).

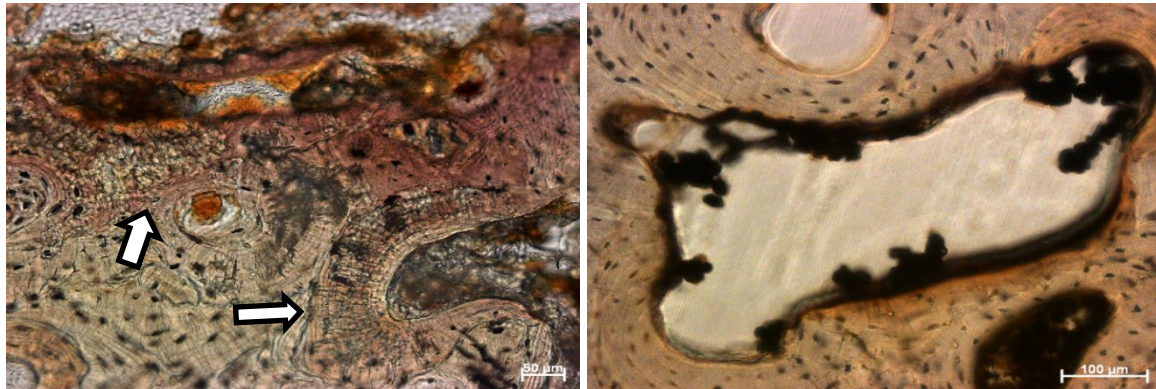


Abb. 4.15 Bei den frühdiagenetisch veränderten Proben vom Westfriedhof beobachtete mineralische Veränderungen. Links: Periostale Auflösung und Rekristallisation des Knochenminerals (WF 27, Hellfeld, 200x). Rechts: Bildung kristalliner Strukturen innerhalb einer Resorptionslakune (WF 18, Hellfeld, 200x).

Bei den archäologischen Proben wiesen insgesamt 21 der 35 untersuchten Knochen (60 %) mikroskopisch sichtbare Veränderungen an der mineralischen Matrix auf. Davon zeigten 7 Proben periostale Rekristallisationsmuster, während in 12 Knochen die Bildung authigener Kristallaggregate stattgefunden hat (siehe Abb. 4.16).

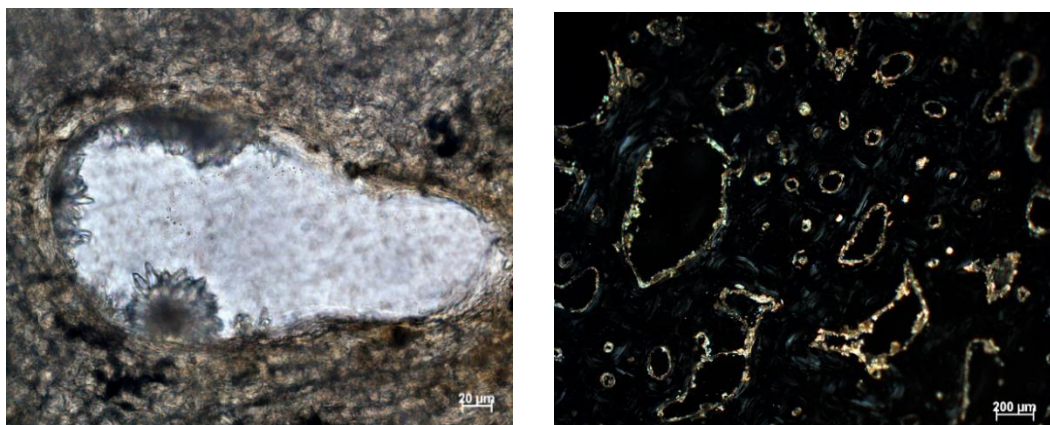
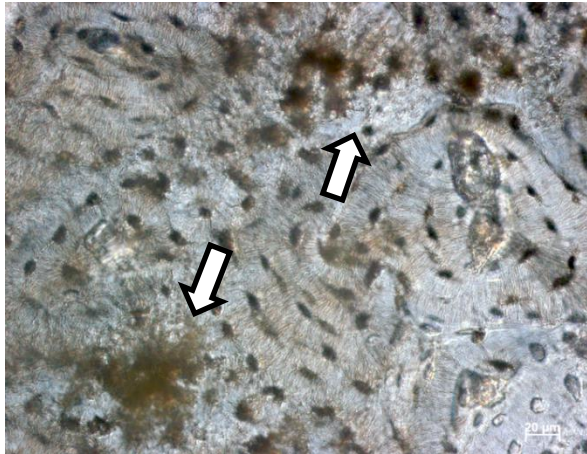


Abb. 4.16 Bildung authigener Kristallphasen in den archäologischen Knochen BrA 10 (links, Differentialinterferenzkontrast, 400x) und BrA 12 (rechts, Polfilter, 50x).

Diese Beobachtung war dabei nicht fundortspezifisch, sondern umfasste Vertreter von fast allen untersuchten Fundplätzen und Zeitstellungen. Probe OTZ 1 wies zudem eine weitere Besonderheit in Form einer bereits makroskopisch erkennbaren intensiv grünen Verfärbung des Knochens auf, welche auch im histologischen Schnitt deutlich zutage trat und auf die Bildung von Grünspan zurückgeführt werden dürfte.

Die histologische Untersuchung des unbestatteten tierischen Vergleichskollektivs zeigte bereits



nach sehr kurzer Liegezeit Alterationen der mineralischen Matrix in Form eines lokalen Rekrystallisationsmusters im Bereich bakterieller Bohrkanäle innerhalb der Compacta (Reh 4, 178 Tage). Dies weist auf eine starke Ansäuerung des Bereichs durch die Aktivität der Mikroorganismen hin (Abb. 4.17).

Abb. 4.17 Mit mikrobiellen Bohrkanälen assoziierte Rekrystallisationsmuster im Knochen von Reh 4, 178 Tage nach der Auslegung des Kadavers (Differentialinterferenzkontrast, 400x).

Histopathologie

Die Registrierung mikrostrukturell sichtbarer pathologischer Auffälligkeiten ist ein wichtiger Baustein für die Interpretation der Daten aus der Analyse der stabilen Isotope des Kollagens und der mineralischen Fraktion des Knochens, da jene die Normwerte des Gewebes eventuell ebenso verschieben können wie degradative Effekte und daher zu falschen Schlussfolgerungen hinsichtlich des Erhaltungszustands des Knochens führen könnten.

Insgesamt zeigte eine große Anzahl von Proben histologische Auffälligkeiten, wobei sich die Probenkollektive in ihrer Grundtendenz voneinander unterschieden. So wiesen mit 54 % über die Hälfte der Proben des Kollektivs Westfriedhof ($n = 27$), 17,1 % der archäologischen Proben ($n = 6$) sowie 9 der 20 untersuchten Rehknochen diverse Auffälligkeiten auf. Dabei fiel bei den Proben des Westfriedhofs die besonders hohe Osteoporose-Frequenz auf. So waren hier insgesamt 76 % der Knochen ($n = 38$) von mittelschwerer bis hochgradiger Knochenresorption betroffen. Bei den Proben des archäologischen Stichprobenkomplexes betrug die Rate mittlerer bis schwerer Osteoporosefälle immerhin 45,7 % ($n = 16$).

Auch bei den tierischen Vergleichsproben zeigte ein Viertel der 20 Knochen deutliche bis hochgradige Anzeichen von Knochenresorption.

In Bezug auf periostale Reaktionen wie Porositäten bzw. Auflagerungen zeigten die Proben vom Westfriedhof mit 20 % registrierter Fälle ($n = 10$) eine relativ hohe Frequenz, während bei den archäologischen Proben nur ein solcher Fall beobachtet wurde. Bei den analysierten Rehknochen wiesen mit 9 von 20 Proben fast die Hälfte zum Teil massive periostale Auflagerungen auf (Abb. 4.18).

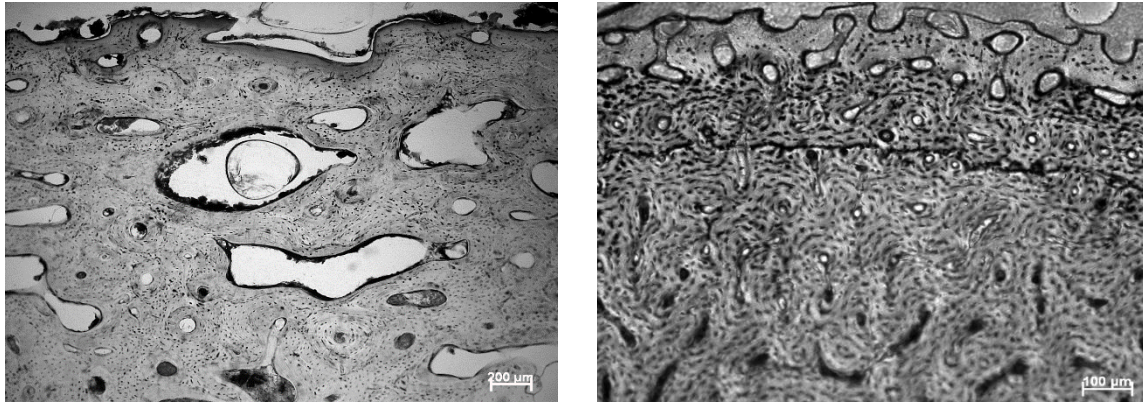


Abb. 4.18 Periostale Reaktionen an den histologisch untersuchten Knochen. Links: Periostale Porosität, WF 19 (Hellfeld, 50x). Rechts: Periostale Auflagerung, Reh 10, 51 Tage (Differenzialinterferenzkontrast, 100x).

Eine weitere mikrostrukturelle Auffälligkeit, welche in den histologischen Schnitten einer Probe vom Westfriedhof (WF 21a) und 4 der archäologischen Knochen (11,4 %) beobachtet wurde, war das Auftreten von Haltelinien (Lines of Arrested Growth, LAGs, siehe Abb. 4.19, links).

Jeweils ein Knochen des archäologischen Probenkollektivs (OTZ 1) und des Westfriedhofs (WF 21a) wiesen zusätzlich zu den zahlreich festgestellten Haltelinien weiterhin einen gestörten Knochenumbau auf, welcher sich in einem für das Alter der Individuen untypisch niedrigen Anteil sekundär osteonalen Knochens widerspiegelt (Abb. 4.19, rechts).

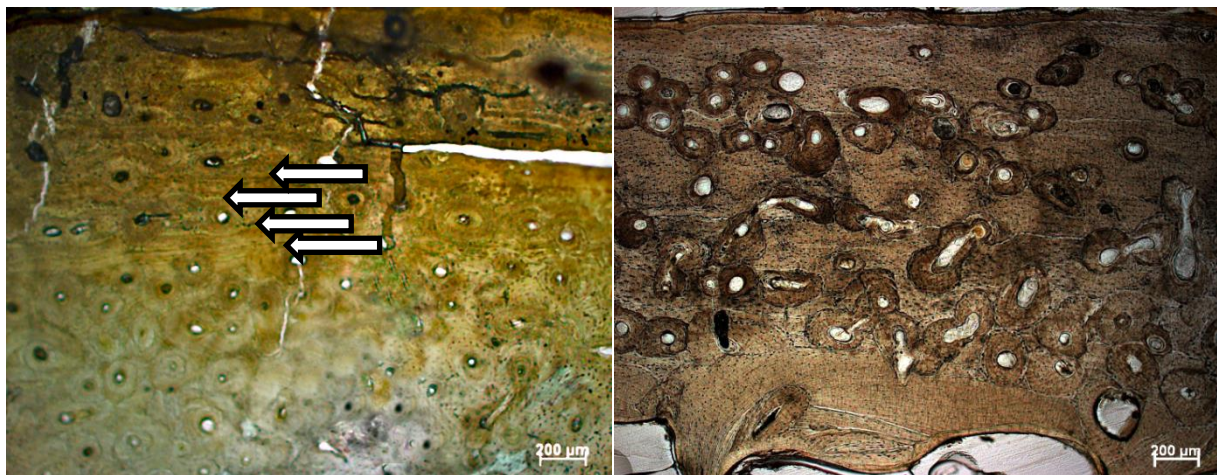


Abb. 4.19 Links: Zahlreiche Haltelinien (Pfeile) im Querschnitt der archäologischen Probe OTZ 1 (Hellfeld, 50x). Rechts: Gestörter Knochenumbau in Probe WF 21a (Hellfeld, 50x). Es handelt sich hierbei um den Querschnitt des Knochens eines 67-jährigen Mannes, welcher für das Alter erheblich zu wenig sekundär osteonalen Knochen zeigt. Auch in diesem Schnitt sind zahlreiche Haltelinien erkennbar.

4.1.3 Charakterisierung des Kollagenerhalts

Alle 169 Proben wurden einer Kollagenextraktion unterzogen, und in allen Fällen konnten zumindest Spuren von organischer Substanz extrahiert werden. Lediglich in einem Fall (experimentelle chemische Degradation, Femur 3, Tag 32) war die Ausbeute so gering, dass eine massenspektrometrische Analyse der Probe nicht möglich war. Ebenso konnte bei insgesamt 4 Proben keine Aminosäureanalyse durchgeführt werden, da die Priorität in erster Linie auf der Ermittlung der isotopischen Zusammensetzung des Kollagens lag und somit für die chromatographische Proteinanalytik nicht mehr genug Extrakt verfügbar war. Dabei handelte es sich um beide Proben des archäologischen Fundplatzes Maisach-Gernlinden (MG 1087, MG 1340) sowie zwei Proben der experimentellen chemischen Degradation (Femur 2, Tag 32, Femur 3, Tag 32).

Bei den unbestatteten Rehknochen wurde aus Kostengründen lediglich die Hälfte des Kollektivs ($n = 15$) massenspektrometrisch und chromatographisch untersucht.

4.1.3.1 Kollagenausbeute nach Extraktion, prozentualer Anteil von C und N und molares C/N-Verhältnis

Das prozentuale Gewicht des Kollagenextrakts ist ein Maß für den Anteil der organischen Substanz am Gesamtgewicht des eingesetzten Knochenpulvers. Die in der vorliegenden Studie ermittelten Gewichtsanteile für Kollagen aus den frischen, diagenetisch unveränderten humanen Knochen ($n = 3$) betrugen 11,7 %, 14,4 % bzw. 20,9 %, alle anderen Proben, auch die frischen Rehknochen (10,0 % - 14,1 %), lagen zum Teil deutlich unter diesen Werten.

Da das Kollagen des Knochens im Normalfall eine recht homogene Aminosäurezusammensetzung aufweist, sollten sich auch die prozentualen Anteile der Kohlenstoff- und Stickstoffatome in einem konstanten, eng gefassten Rahmen bewegen. Die für die diagenetisch unveränderten humanen Referenzproben ermittelten prozentualen Anteile von Kohlenstoff und Stickstoff aus dem Kollagen des Knochens betrugen zwischen 42,7 % und 44,9 % für C und zwischen 15,1 % und 16,2 % für N. Alle analysierten Stichprobenkollektive wiesen deutlich breitere Spannen auf und unterschieden sich untereinander signifikant (Kruskal-Wallis-H-Test, $p = 0,000$).

Der molare C/N-Quotient ergibt sich aus den prozentualen Anteilen der Kohlenstoff- und Stickstoffatome am Kollagen unter Berücksichtigung des Molekulargewichts und ist der am häufigsten verwendete Qualitätsindikator für den Erhaltungszustand für Kollagen (siehe 1.5.1). Die frischen humanen Referenzknochen zeigten eine eng gefasste Wertespanne von 3,22 bis 3,35, welche von den degradativ veränderten Proben meist eingehalten bzw. zum Teil deutlich unterschritten wurde, wenn ein extremer Ausreißer bei den chemisch degradierten Knochen (Femur 2, Tag 32: 9,56) ausgeklammert wird. Lediglich im Fall der archäologischen Proben wurde die von den frischen Knochen vorgegebene Spanne mehrheitlich auch deutlich überschritten (63 %, $n = 22$). Die mola-

ren C/N-Werte der tierischen Vergleichsknochen lagen dagegen alle deutlich unterhalb der vorgegebenen Spanne (siehe Tabelle 4.2). Dies wirft die Frage nach einer direkten Vergleichbarkeit zwischen tierischen und menschlichen Knochen auf.

Die Verteilung der erhobenen molaren C/N-Werte unterschied sich zwischen den Stichproben signifikant (Kruskal-Wallis-H-Test, $p = 0,000$).

In Tabelle 4.2 sowie Abb. 4.20 sind die in den einzelnen Stichproben ermittelten Minima, Maxima und Mediane (Mittelwert im Fall der frischen Referenzproben) in einer Übersicht zusammengefasst. Zur besseren grafischen Veranschaulichung wurden die beiden extremen Ausreißer hinsichtlich der molaren C/N-Werte bei der experimentellen chemischen Degradation (Femur 2, Tag 28: C/N-molar = 0,72; Femur 2, Tag 32: C/N-molar = 9,56) nicht abgebildet.

Tabelle 4.2 Häufigkeitsverteilung der ermittelten Kollagenparameter in den untersuchten Stichproben.

Probenkollektiv	n	Gew % Kollagen				% C				% N				C/N			
		Min	Max	\bar{x}/\tilde{x}	2σ	Min	Max	\bar{x}/\tilde{x}	2σ	Min	Max	\bar{x}/\tilde{x}	2σ	Min	Max	\bar{x}/\tilde{x}	2σ
FrISChe hum. Knochen	3	11,7	20,9	15,7	3,9	42,7	44,9	43,7	1,0	15,1	16,2	15,6	0,4	3,2	3,4	3,3	0,1
Westfriedhof	50	2,6	12,8	7,6	2,3	37,2	48,7	43,0	2,0	11,5	17,5	11,5	0,7	2,8	3,4	3,2	0,1
Archäol. Proben	35	0,2	12,2	4,9	3,5	19,3	49,7	40,1	6,2	7,0	16,8	13,8	2,1	3,0	3,6	3,3	0,2
Rehknochen	30	7,4	14,5	11,2	1,8	38,5	55,3	43,5	4,7	14,5	20,5	16,0	1,7	3,1	3,2	3,1	0,0
Exp. chem. Degr.	33	0,1	22,1	10,6	5,8	5,0	47,0	37,7	13,7	1,2	17,4	14,6	4,5	0,7	9,6	3,2	1,4
Exp. bakt. Degr.	18	8,9	15,3	13,8	1,7	34,3	51,2	45,3	3,4	12,5	18,6	12,5	1,1	3,0	3,3	3,2	0,1

4. ERGEBNISSE

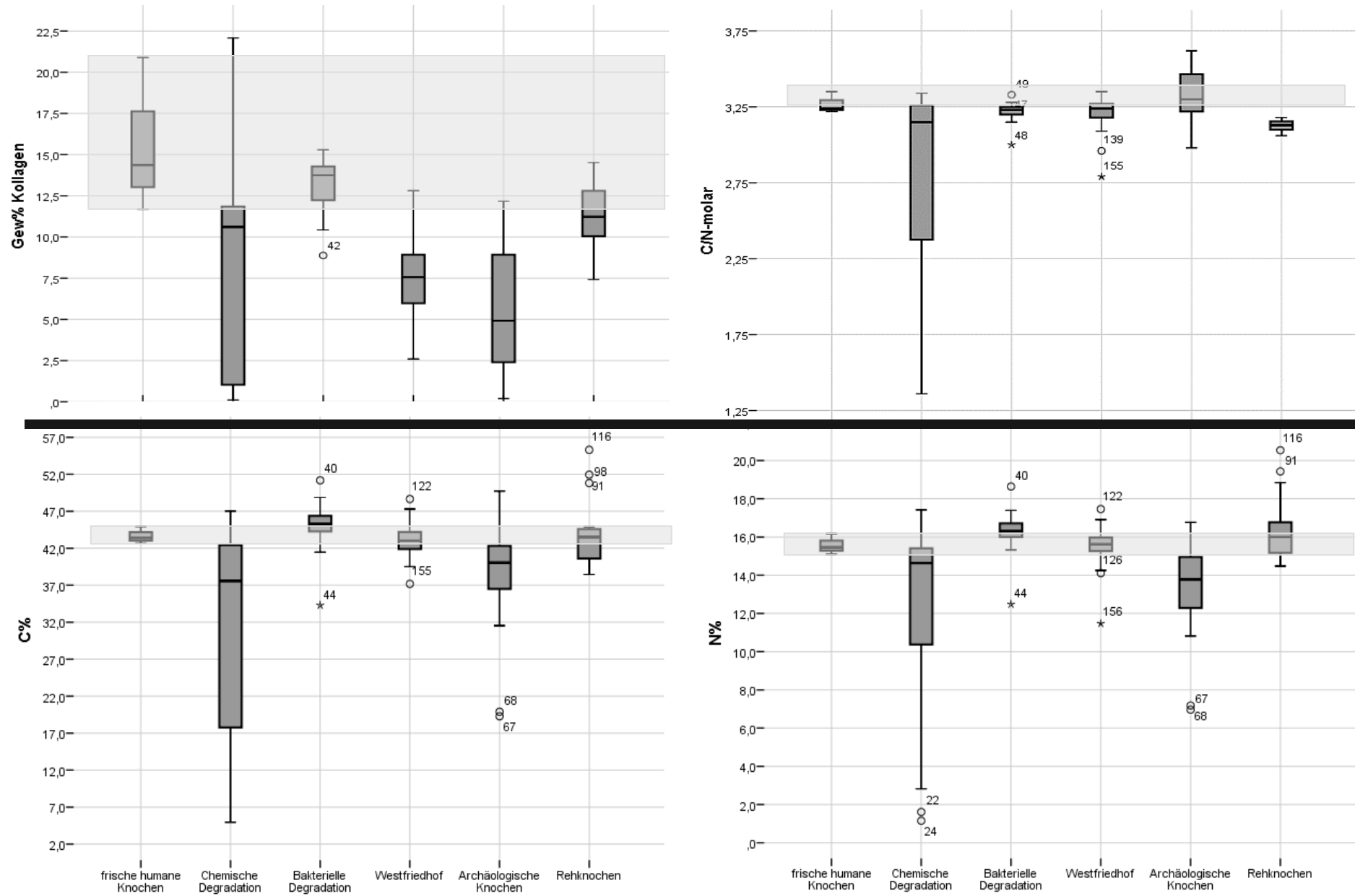


Abb. 4.20 Häufigkeitsverteilung der ermittelten Kollagenparameter in den untersuchten Stichproben. Die von den frischen humanen Referenzproben vorgegebene Spanne ist jeweils grau unterlegt.

Experimentelle chemische Degradation

Die über 32 Tage in heißem Wasser inkubierten Knochenproben zeigten erwartungsgemäß eine große Spanne in der Verteilung des prozentualen Gewichtsanteils von Kollagen. Generell schwankten die Proben nach einem initialen Abfall der Werte bis zum 12. bis 14. Inkubationstag um einen mittleren Wert von 12,4 % (mittlere Standardabweichung 2,4 %). Dabei verlief der initiale Kollagenverlust in den drei Proben unterschiedlich. Femur 1 verlor innerhalb der ersten 8 Tage relativ konstant 26 % des prozentualen Kollagenanteils. Bei Femur 2 war nach 4 Tagen sogar ein Anstieg des Kollagengewichts relativ zur unveränderten Vergleichsprobe erkennbar und damit der Verlust bis Tag 8 mit 47 % sehr hoch. Bei Femur 3 war am 6. Tag ein Anstieg zu beobachten, der prozentuale Verlust an prozentualem Kollagengewicht nach 8 Tagen betrug 16 %.

Nach dem 8. Inkubationstag zeigten alle drei Proben einen erneuten Anstieg der Werte, bevor ab dem 14. Tag ein steiler Abfall des prozentualen Kollagengewichts gegen 0 verzeichnet wurde (Abb. 4.21a). Ab diesem Zeitpunkt zeigten die Proben auch makroskopisch eine deutlich fassbare Strukturveränderung, welche sich beim späteren Zermahlen der Knochen in einer kreidigen Konsistenz äußerte.

Auch hatte das Erhitzen in Wasser einen gravierenden Einfluss auf den prozentualen Anteil von Kohlenstoff und Stickstoff aus dem extrahierten Kollagen, was in Abb. 4.21b und c deutlich zum Ausdruck kommt. Besonders die % C-Werte schwankten nach einem initialen Einbruch bis zum 4. Inkubationstag sehr stark, was in der sehr hohen Standardabweichung von 13,7 % deutlich wird. Die prozentualen Stickstoffwerte waren dabei wesentlich stabiler. Für beide Atome wurde ab dem 16. Inkubationstag ein drastischer Abfall beobachtet, was einer kurzen zeitlichen Versetzung hinsichtlich des Abfalls des prozentualen Kollagengesamtgewichts entspricht, welcher bereits nach 14 Tagen einsetzte. Der kurzzeitige Einbruch des Kollagengewichts am 8. Inkubationstag korrespondierte hier mit einem kurzfristigen Anstieg sowohl der prozentualen Kohlenstoff- als auch der Stickstoffwerte.

Hinsichtlich des molaren C/N-Verhältnisses zeigten die drei Femora einen sehr uneinheitlichen Verlauf (vgl. Abb. 4.21d). Während der Wert für Femur 3 bis zum 8. Inkubationstag relativ konstant blieb, konnte sowohl bei Femur 1 als auch bei Femur 2 ein starker Abfall des C/N-Wertes innerhalb der ersten 4 Inkubationstage festgestellt werden (30 % für Femur 1, von 3,35 auf 2,36; 57 % bei Femur 2, von 3,22 auf 1,38). Nach dem 4. Tag stieg dieser wieder auf das Niveau des Ausgangswertes an. Ab dem 8. Inkubationstag fielen die Werte für Femur 1 und Femur 3 erneut ab, während das molare C/N-Verhältnis aus den Unterproben von Femur 2 bis zum 16. Inkubationstag stabil blieb. Insgesamt schwankten die von Femur 3 gemessenen Gesamtwerte mit einer Standardabweichung von 0,38 am wenigsten stark (Femur 1: 0,63; Femur 2: 2,05). Femur 2 zeigte ab dem 28. Inkubationstag mit C/N-molar = 0,72 bzw. 9,56 die extremsten Werte des Stichprobenkollektivs.

4. ERGEBNISSE

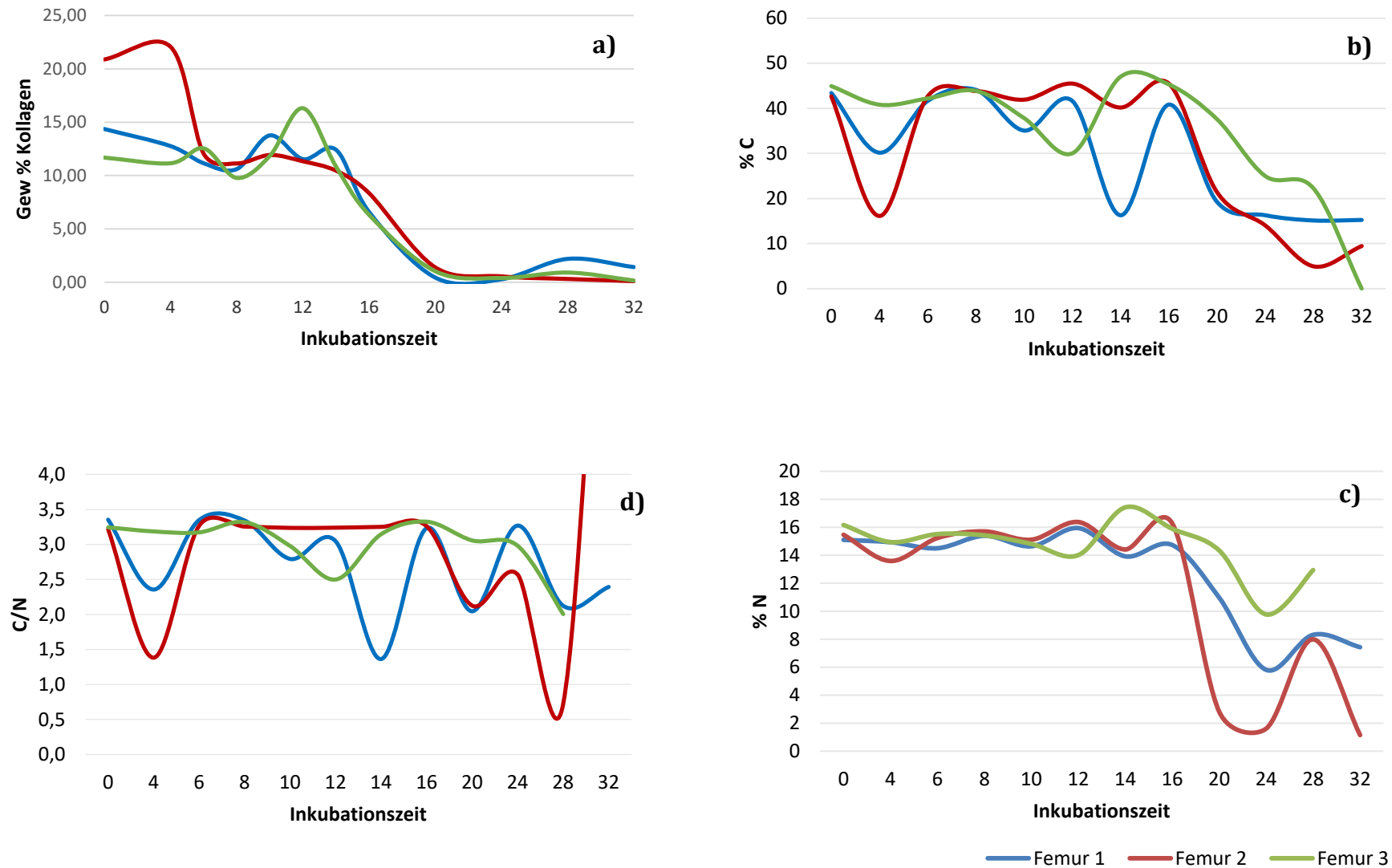


Abb. 4.21 Verlauf des gemessenen prozentualen Kollagengewichts (a), der Anteile von Kohlenstoff (b) und Stickstoff (c) sowie des molaren C/N-Verhältnisses (d) aus dem extrahierten Kollagen über die Inkubationszeit der Knochenstücke in heißem Wasser.

Experimentelle bakterielle Degradation

Die mit Bakterien angeimpften frischen Femurdiaphysenstücke erzielten bei der Extraktion des Kollagens mit einer Spanne von 8,8 % - 15,3 % insgesamt niedrigere Werte als die unveränderten Knochen vor der Degradation. Dabei bestand in der Extraktionsausbeute kein signifikanter Unterschied zwischen den mit aeroben und anaeroben Keimen beimpften Knochen (Mann-Whitney-U-Test). Es lässt sich dennoch feststellen, dass, während die Knochen nach der aeroben Degradation durchgehend niedrigere Kollagenausbeuten lieferten als die entsprechenden frischen Knochen, die Proben der anaeroben Degradation mit Ausnahme von Femur 2 stets höhere Gewichtsanteile organischen Materials aufwiesen als das unveränderte Ausgangsmaterial.

Den insgesamt niedrigsten Gewichtsprozent-Anteil wiesen die mit *P. fluorescens* beimpften Proben auf, welche zugleich am stärksten von Schimmelbefall betroffen waren. Der geringste prozentuale Gewichtsunterschied im Vergleich zu den frischen Ausgangsproben war bei den mit *S. griseus* inkubierten Knochen zu erkennen, wobei auch hier Femur 2 die Ausnahme bildete (vgl. Abb. 4.22).

Auch in den prozentualen Anteilen von Kohlenstoff und Stickstoff aus dem Kollagen zeigten sich einige Abweichungen im Vergleich zu den frischen Referenzknochen, wobei die beiden Werte in ihrem Trend größtenteils nicht abweichend voneinander verliefen, was in einer statistisch hoch signifikanten Korrelation der beiden Merkmale zum Ausdruck kommt (siehe 4.2.4) sowie auch bei grafischer Darstellung gut erkennbar ist (vgl. Abb. 4.22). Lediglich in der unbeimpften, unter aeroben Bedingungen inkubierten Kontrolle von Femur 2, fiel der % N-Wert im Vergleich zum % C-Wert ab. Die deutlichsten Veränderungen waren bei Femur 1, welcher mit *P. fluorescens* inokuliert wurde, zu beobachten. Hier war ein simultaner Anstieg beider Werte um 15 % bzw. 19 % erkennbar. Bei Femur 2, *S. griseus*, fielen beide Werte um 24 % ab. Jedoch zeigten auch weitere Proben einen, wenn auch leichteren, Anstieg der % C- und % N-Werte (Femur 1, *P. melaninogenica*; Femur 2, Kontrolle (anaerob); Femur 3, *S. griseus*).

Hinsichtlich des prozentualen Gehalts an C und N konnte insgesamt kein Trend zwischen den Bakterienspezies ausgemacht werden, und auch die Tendenzen zwischen den Knochen, welche unter aeroben und anaeroben Bedingungen inkubiert wurden, unterschieden sich statistisch nicht signifikant voneinander (Mann-Whitney-U-Test).

Mit einer Wertespanne zwischen 3,00 und 3,33 nach der Inkubation zeigten die experimentell beimpften Knochen insgesamt leicht niedrigere molare C/N-Werte als die frischen, diagenetisch unveränderten Referenzproben (C/N-molar = 3,22–3,35). Generell waren die Werte, bis auf eine Ausnahme, über alle Proben relativ konstant und schwankten mit einer Standardabweichung von 0,05 um einen mittleren Wert von 3,23. Dies liegt innerhalb des Messfehlers, weshalb die Werte als stabil angesehen werden können.

Lediglich eine Probe, die unter anaeroben Bedingungen inkubierte Kontrolle von Femur 3, hob sich mit einem molaren C/N-Wert von 3,00 deutlich von den anderen ab (vgl. Abb. 4.22). Für diese

4. ERGEBNISSE

Probe wurde ebenfalls ein Abfall des prozentualen Kohlenstoffwerts festgestellt, während der Stickstoffanteil konstant blieb.

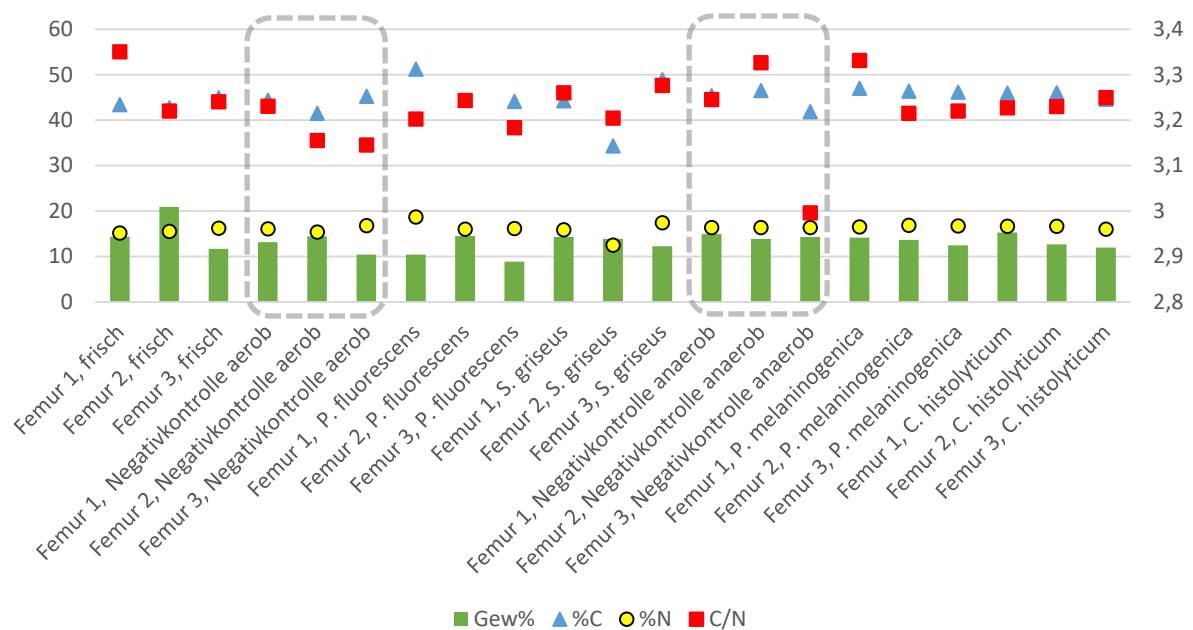


Abb. 4.22 Darstellung der analysierten Kollagenparameter der experimentell bakteriell degradierten Proben (prozentuales Kollagengewicht, %C, %N, C/N-Verhältnis) im Vergleich. Die Kontrollen sind jeweils grau eingekreist. Der molare C/N-Wert weicht dabei jeweils nur unwesentlich von dem gemittelten Wert der unveränderten Referenzproben ab. Die einzige Ausnahme bildet die unter anaeroben Bedingungen inkubierte Kontrolle von Femur 3.

Bodengelagerte Proben und unbestattete Vergleichsknochen

Bei einem Vergleich der Extraktionsergebnisse der beiden bodengelagerten Stichprobensets zeigten die archäologischen Proben tendenziell geringere Kollagenausbeuten (vgl. Tabelle 4.2), was zu einem statistisch signifikanten Unterschied führt (Mann-Whitney-U-Test, $p = 0,008$), wobei ein großer Überschneidungsbereich zwischen den Probenkollektiven bestand.

Deutlicher unterschieden sich die beiden bodengelagerten Stichproben und die unbestatteten Rehknochen in Bezug auf die Kollagenausbeute (Kruskal-Wallis-H-Test, $p = 0,000$).

Abb. 23, in welcher die Tendenzen in den Kollagenausbeuten über die Depositionszeit der Überreste dargestellt sind, macht deutlich, dass alle Proben, mit Ausnahme von Reh 9, hinsichtlich der ermittelten Gewichtsprozent-Werte für Kollagen in den Knochen des ersten Beprobungszeitraums zum Teil deutlich einbrachen und im zweiten Beprobungszeitraum wieder anstiegen.

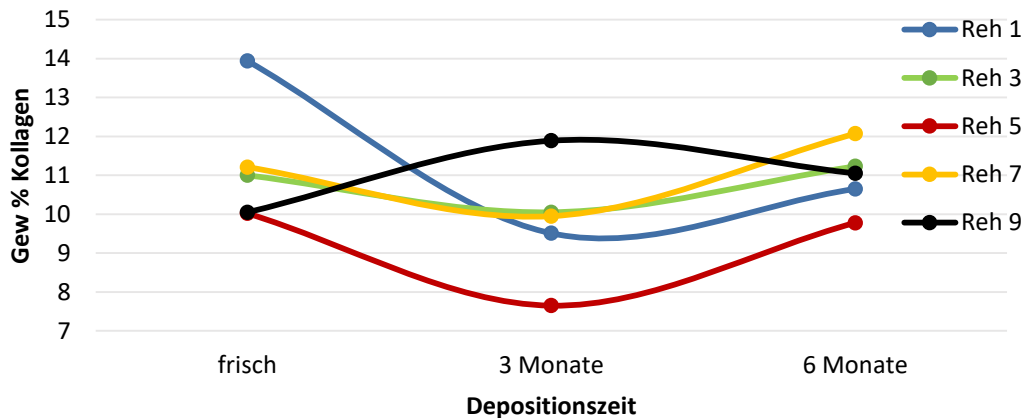


Abb. 4.23 Ermitteltes Kollagengewicht nach Extraktion aus den unbestatteten Rehknochen über die Liegezeit.

Die beiden bodengelagerten Stichprobensets unterscheiden sich sowohl in der Verteilung des prozentualen Kohlenstoff- als auch Stickstoffanteils statistisch hoch signifikant voneinander (Mann-Whitney-U-Test, $p = 0,000$). Die Werte der archäologischen Proben streuten mit einer Standardabweichung von 6,2 für % C und 2,1 für % N wesentlich stärker als die vom Westfriedhof gewonnenen Daten (2,0 für % C und 0,7 für % N).

Die Rehknochen zeigten mit 55,3 % für C und 20,5 % für N sehr hohe Maxima, womit sie sich deutlich von den anderen analysierten Proben abhoben. Die Verteilung der Werte über die Liegezeit folgte dabei einem interessanten Verteilungsmuster (vgl. Abb. 4.24). Der Vergleich der gemittelten Werte zeigt, dass sowohl der prozentuale Kohlenstoff- als auch der Stickstoffanteil bei den Proben des ersten Beprobungsintervalls im Vergleich zu den Ausgangswerten mitunter erheblich (im Fall von % C) erhöht waren. Während die Werte für % N aus den Knochen des zweiten Beprobungsintervalls relativ konstant blieben, stieg der prozentuale Kohlenstoffwert weiter an.

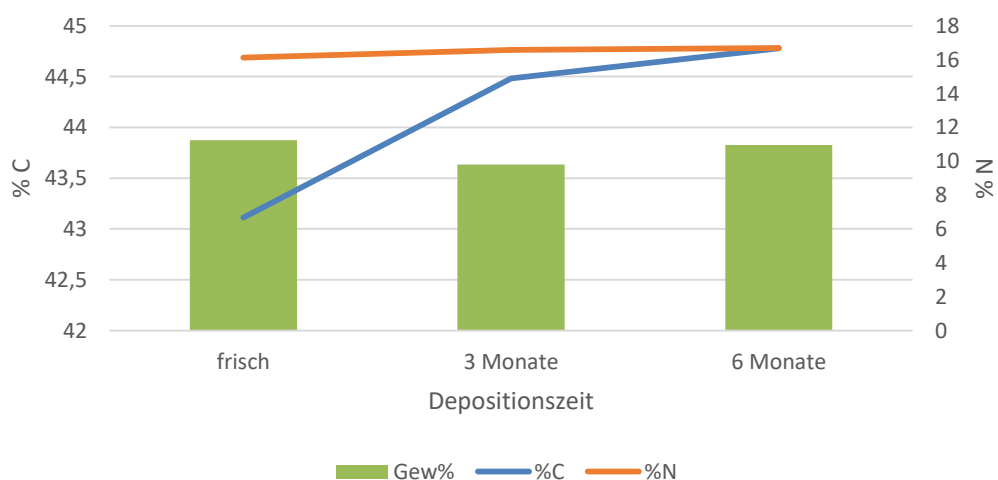


Abb. 4.24 Gemittelter Verteilungstrend der prozentualen Kohlenstoff- und Stickstoffanteile aus dem Kollagenextrakt der untersuchten Rehknochen, dargestellt im Vergleich zum prozentualen Kollagengewicht über die Depositionszeit. Während der Gewichtsanteil des extrahierten Kollagens in den Knochen des ersten Beprobungsintervalls sank, stieg sowohl der Wert für % C als auch für % N an. Dies deutet auf eine nicht-kollagene Kontamination der Proben hin.

Die beiden bodengelagerten Stichprobensets unterschieden sich hinsichtlich der Verteilung des molaren C/N-Quotienten statistisch signifikant voneinander (Mann-Whitney-U-Test, $p = 0,001$). Während die Mehrzahl der Proben vom Westfriedhof (68%, $n = 34$) innerhalb der durch die frischen Vergleichsproben vorgegebenen Spanne zu finden war und die restlichen 32 % ausschließlich niedrigere Werte aufwiesen, zeigten die archäologischen Proben insgesamt eine größere Streuung und mehrheitlich höhere Werte als 3,24.

Die unbestatteten Rehknochen wiesen insgesamt statistisch signifikant niedrigere molare C/N-Werte auf als die humanen Proben (Mann-Whitney-U-Test, $p = 0,000$). Da dies auch für die frischen Knochen galt ($\bar{x} = 3,15$, $n = 5$), kann dies einen systematischen Unterschied zwischen menschlichen und tierischen Knochen darstellen. Beim Vergleich der Werte über den Depositionszeitraum fiel auf, dass die gemittelten Werte im ersten Beprobungszeitraum, dem Muster der prozentualen Kohlenstoffwerte folgend, zwar leicht anstiegen, jedoch nur um durchschnittlich 0,4 %. Letztendlich schwankten alle Werte, auch die der Knochen des zweiten Beprobungszeitraums, innerhalb der für die massenspektrometrische Messung angegebenen Standardabweichung von $\pm 0,1$. Das molare C/N-Verhältnis kann daher über die Depositionszeit der Knochen als konstant angesehen werden.

4.1.3.2 Verhältnis der stabilen Isotope von Kohlenstoff und Stickstoff

Das Hauptziel dieser Arbeit war die Charakterisierung der Auswirkungen diagenetischer Veränderungen des Knochens auf die aus der Isotopenanalyse des Gewebes gewonnenen Daten. Da Veränderungen der Werte jedoch nur bei einer bekannten Ausgangskonstellation sicher angesprochen werden können, ist besonders die Auswertung der Degradationsexperimente, bei welchen diagenetisch unveränderte, frische Referenzproben zur Verfügung standen, von entscheidender Bedeutung.

Experimentelle chemische Degradation

Bei der Auswertung des Verlaufs der Daten aus der Analyse der stabilen Isotope aus dem Kollagen der durch Inkubation in heißem Wasser experimentell degradierten Knochenproben fiel auf, dass die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte über einen langen Zeitraum konstant blieben.

Bis zum 20. Inkubationstag schwankten die Werte mit geringer Standardabweichung (0,11-0,29 ‰) um mittlere Werte von -20,03 ‰ bis -20,40 ‰. Erst danach waren deutliche Änderungen in den Daten erkennbar.

Bei allen Proben stieg der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert ab dem 20. Inkubationstag an, bei Femur 1 um 1,8 ‰ und bei Femur 2 um 2,3 ‰. Femur 3 zeigte mit 1,0 ‰ den geringsten Anstieg. Ab dem 24. Tag wurde kein einheitlicher Trend mehr beobachtet. Bei Femur 1 fiel der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert bis zum Ende der Inkubationszeit rapide ab, bei Femur 2 und 3 erfolgte erst ein erneuter leichter Abfall, bevor die

Werte kurz vor Ende der Inkubation deutlich anstiegen. Aufgrund der Beobachtungen können die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte bis zum 20. Inkubationstag bei allen Proben als verlässlich angesehen werden.

Für die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte ergab sich ein weniger einheitliches Bild. Femur 3 wies für hinsichtlich der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte einen ebenso konstanten Verlauf über die Inkubationszeit auf wie bei den $\delta^{13}\text{C}$ -Werten. Auch hier fand eine fundamentale Änderung erst ab dem 20. Inkubationstag statt, indem der $\delta^{15}\text{N}$ -Wert deutlich auf 8,31 ‰ am 28. Inkubationstag abnahm. Für den 32. Tag lagen keine Daten vor, da aus der Probe kein Kollagen mehr extrahiert werden konnte. Femur 1 und 2 zeigten beide einen kurzzeitigen Einbruch des Wertes am 4. Inkubationstag (Femur 1 um -0,86 ‰, Femur 2 um -3,53 ‰). Danach stiegen die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte wieder annähernd auf das Niveau der Ausgangsdaten an. Der Verlauf blieb im Fall von Femur 2 anschließend bis zum 16. Inkubationstag relativ konstant und fiel erst danach kontinuierlich ab. Femur 1 zeigte am 14. Tag einen erneuten deutlichen Einbruch des $\delta^{15}\text{N}$ -Wertes, welcher am 16. Tag kurzzeitig wieder auf das Ausgangsniveau anstieg, um danach schließlich kontinuierlich zu fallen. Abb. 4.25 verdeutlicht den Verlauf der Isotopenwerte über die Inkubationszeit für alle 3 Proben in einer Übersicht.

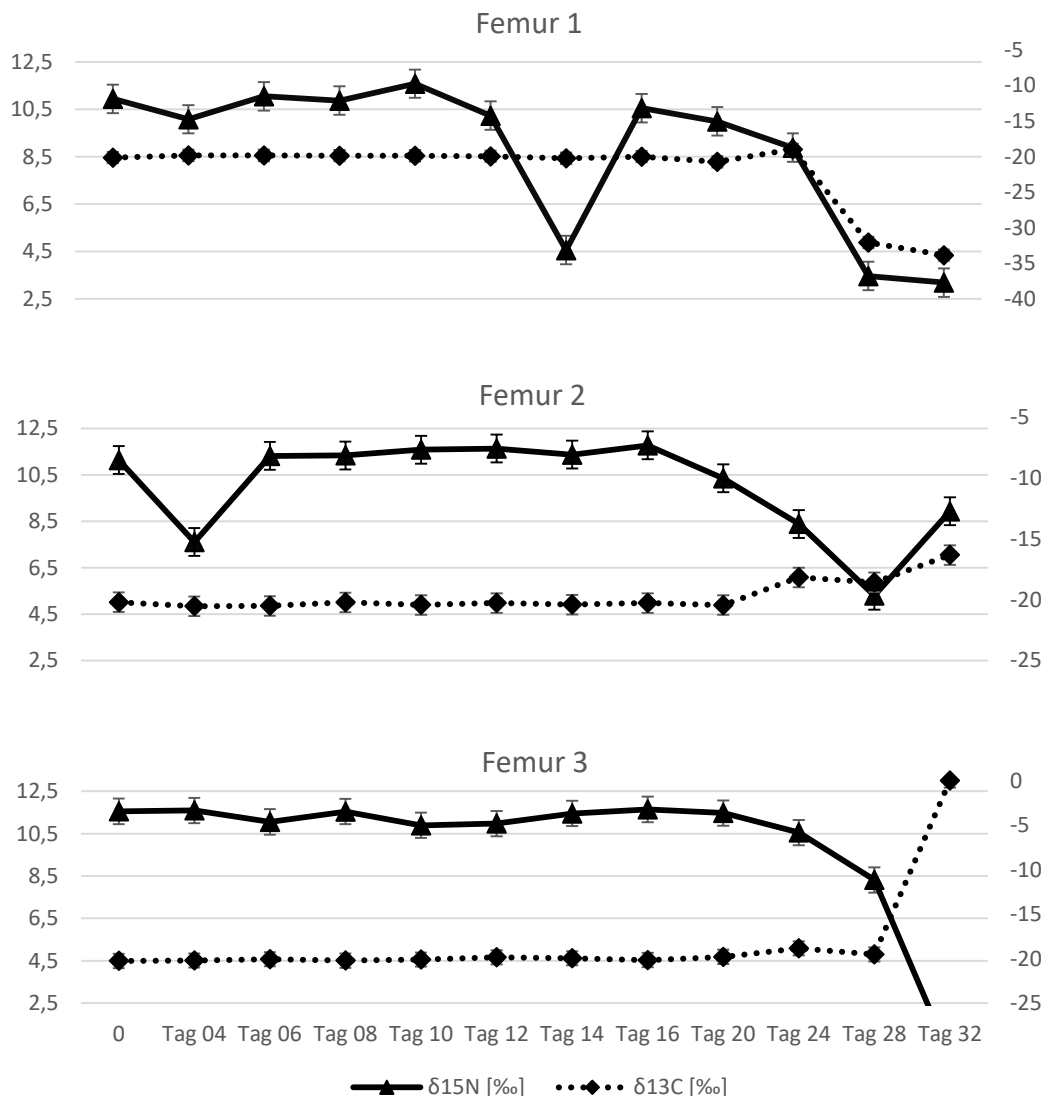


Abb. 4.25 Verlaufstrend der $\delta^{13}\text{C}$ - und $\delta^{15}\text{N}$ -Werte über die Inkubationszeit der 3 Femurproben in heißem Wasser. Die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte blieben bei allen Proben bis zum 20. Inkubationstag relativ konstant, bei den $\delta^{15}\text{N}$ -Werten waren stärkere Schwankungen erkennbar.

4. ERGEBNISSE

Experimentelle bakterielle Degradation

Die mit Bakterien beimpften Knochenproben zeigten insgesamt nur geringe Variationen hinsichtlich der isotopischen Verhältnisse von Kohlenstoff und Stickstoff aus dem Kollagen, welche für die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte unter 1 ‰ und für die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte in etwa 1 ‰ ausmachte.

Der Unterschied im Vergleich zu den frischen Referenzproben war weder für $\delta^{13}\text{C}$ noch $\delta^{15}\text{N}$ statistisch signifikant (Mann-Whitney-U-Test). Tabelle 4.3 stellt die Isotopendaten der frischen, diagenetisch unveränderten Referenzproben im Vergleich mit den gemittelten Werten der aeroben und anaeroben bakteriellen Inkubation in einer Übersicht dar.

	$\delta^{13}\text{C}$ frisch	$\delta^{15}\text{N}$ frisch	Tabelle 4.3 Vergleich zwischen den Isotopendaten der frischen Referenzknochen sowie den gemittelten Werten aus den Degradationsexperimenten mit aeroben und anaeroben Mikroorganismen. Die Werte zeigten nur geringe Variationen. Der bakterielle Einfluss auf die Isotopenwerte des Kollagens war damit unerheblich. Die Standardabweichung der Messung betrug 0,04 ‰ für $\delta^{13}\text{C}$ und 0,03 ‰ für $\delta^{15}\text{N}$.				
	$\bar{x}_{\delta^{13}\text{C}}$ (aerob)	$2\sigma_{\delta^{13}\text{C}}$ (aerob)	$\bar{x}_{\delta^{15}\text{N}}$ (aerob)	$2\sigma_{\delta^{15}\text{N}}$ (aerob)	$\bar{x}_{\delta^{13}\text{C}}$ (anaerob)	$2\sigma_{\delta^{13}\text{C}}$ (anaerob)	$\bar{x}_{\delta^{15}\text{N}}$ (anaerob)
Femur 1	-20,01	0,03	10,78	0,07	-19,98	0,30	0,17
Femur 2	-20,29	0,08	11,10	0,06	-20,09	0,08	0,12
Femur 3	-20,22	0,36	11,53	0,12	-19,87	0,11	0,10

Die größte Varianz in den $\delta^{13}\text{C}$ -Werten zeigte Femur 3, wobei hier die mit *P. fluorescens* und *P. melaninogenica* beimpften Proben die positivsten Werte annahmen. Auch die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte waren in diesen beiden Unterproben leicht erhöht. Bei den anderen Proben war diese Beobachtung jedoch nicht reproduzierbar. Femur 1 und 2 zeigten eher eine gewisse Streuung bezüglich der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte, jedoch war die Differenz zwischen höchstem und niedrigstem Wert mit jeweils 0,4 ‰ sehr niedrig. Es war kein statistischer Trend zwischen den aerob und anaerob inkubierten Proben auszumachen (Mann-Whitney-U-Test). Abb. 4.26 fasst alle Ergebnisse in einer Übersichtsgrafik zusammen.

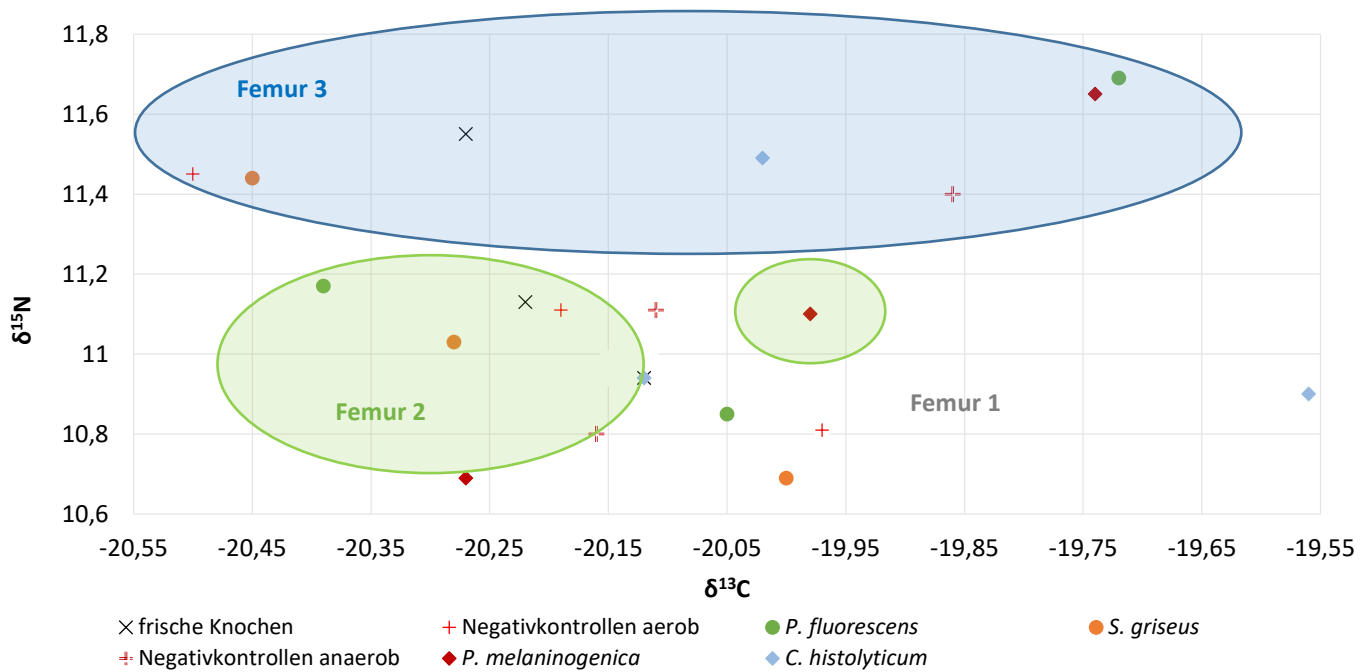


Abb. 4.26 Verteilung der Isotopenverhältnisse von Kohlenstoff und Stickstoff in den mit Bakterien angeimpften Knochenproben. Die Unterproben von Femur 2 und 3 sind zur besseren grafischen Abgrenzung eingekreist.

Bodengelagerte Proben

Für die Knochen der beiden bodengelagerten Probenkollektive konnte nur der isotopische Status quo erhoben werden, da keine Möglichkeit bestand, auf das Verhältnis der stabilen Isotope *in vivo* zurückzuschließen. Somit konzentrierte sich die Auswertung auf die Identifizierung im Vergleich zu der Mehrzahl der Proben auffälligen Isotopenwerten des Kollagens, um so einen möglichen Zusammenhang mit diagenetischen Modifikationen des Biomoleküls herzustellen.

So war die überwiegende Anzahl der Proben des Westfriedhofs (76 %, n = 38) in einem Wertebereich zwischen $\delta^{13}\text{C} = -20,2 \text{ ‰}$ und $-19,5 \text{ ‰}$ sowie $\delta^{15}\text{N} = 10,7 \text{ ‰}$ und $12,2 \text{ ‰}$ lokalisiert.

Einige Proben hoben sich jedoch anhand ihrer $\delta^{13}\text{C}$ -, $\delta^{15}\text{N}$ - oder beider Werte teilweise im Rahmen mehrerer ‰ von der Mehrheit ab (Abb. 4.27). Dabei handelte es sich um die Proben: WF 8b, WF 16, WF 31, WF 42a, WF 48, WF 49b ($\delta^{13}\text{C}$) sowie WF 2, WF 15, WF 29b, WF 49b und WF 51 ($\delta^{15}\text{N}$). Abb. 4.28 zeigt, dass die archäologischen Proben eine höhere Streuung hinsichtlich ihrer isotopischen Zusammensetzung sowohl für den Kohlenstoff als auch für den Stickstoff aus dem Kollagen aufwiesen. Die Ernährungsgewohnheiten historischer Populationen sind nicht mit denen einer modernen mitteleuropäischen Bevölkerung, wie sie auf dem Westfriedhof vertreten ist, vergleichbar. Es wurde jedoch deutlich, dass die Werte der einzelnen Fundplätze meist eng beisammen lagen (z.B. Bruchsal, Burgweinting, Kempten, Manching, Maisach-Gernlinden), was eine ähnliche Ernährungssituation bzw. den Zugang zu denselben Lebensmitteln innerhalb einer Population nahelegt. Jedoch ist im Fall einiger Fundplätze eine stärkere Streuung der Werte erkennbar. Besonders deutlich wurde dies bei den Proben der Fundkomplexe Regensburg-Minoritenweg und Altdorf.

4. ERGEBNISSE

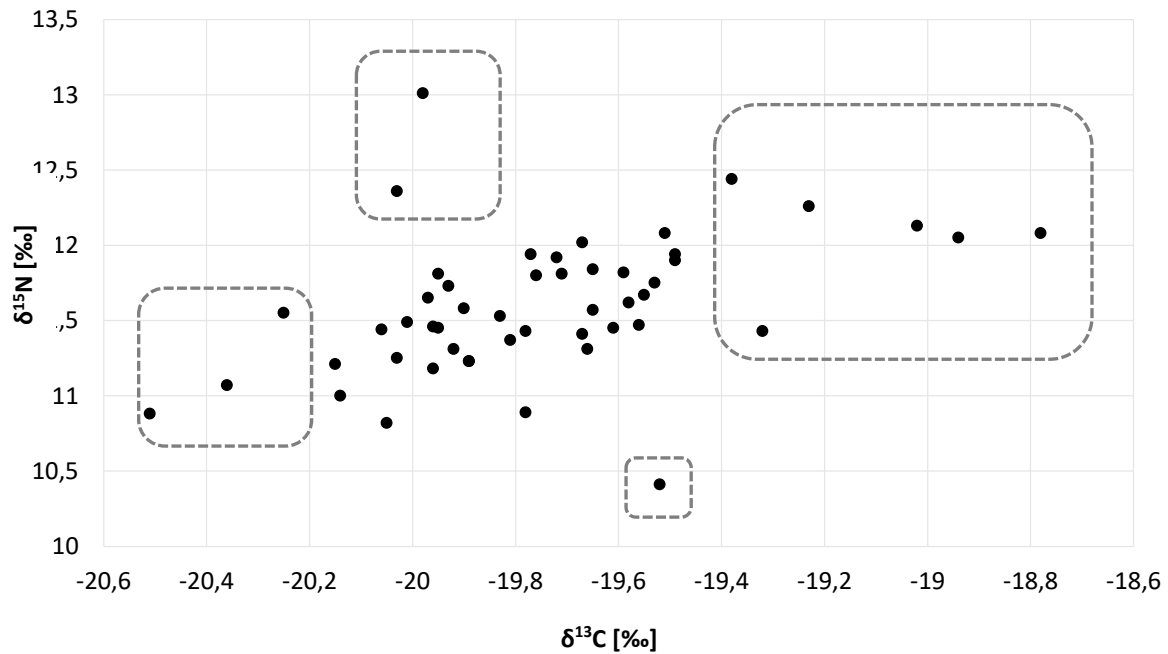


Abb. 4.27 Verteilung der Isotopenverhältnisse von Kohlenstoff und Stickstoff in den Proben des Kollektivs Westfriedhof. Die Mehrzahl der Werte konzentriert sich in einem relativ eng gefassten Bereich. Jene Proben, welche sich mit ihrer Isotopensignatur von den restlichen Werten absetzen, sind hervorgehoben.

Im Vergleich zu den übrigen Individuen der Fundplätze auffällige Datenpunkte sind hier durch das vergleichsweise hohe Stickstoffisotopenverhältnis bzw. überwiegend positivere $\delta^{13}\text{C}$ -Werte gekennzeichnet ($\delta^{13}\text{C}$: Alt 1, Alt 220, MWL 137, FH 3520; $\delta^{15}\text{N}$: Alt 1, Alt 93, SB 626, FH 3520).

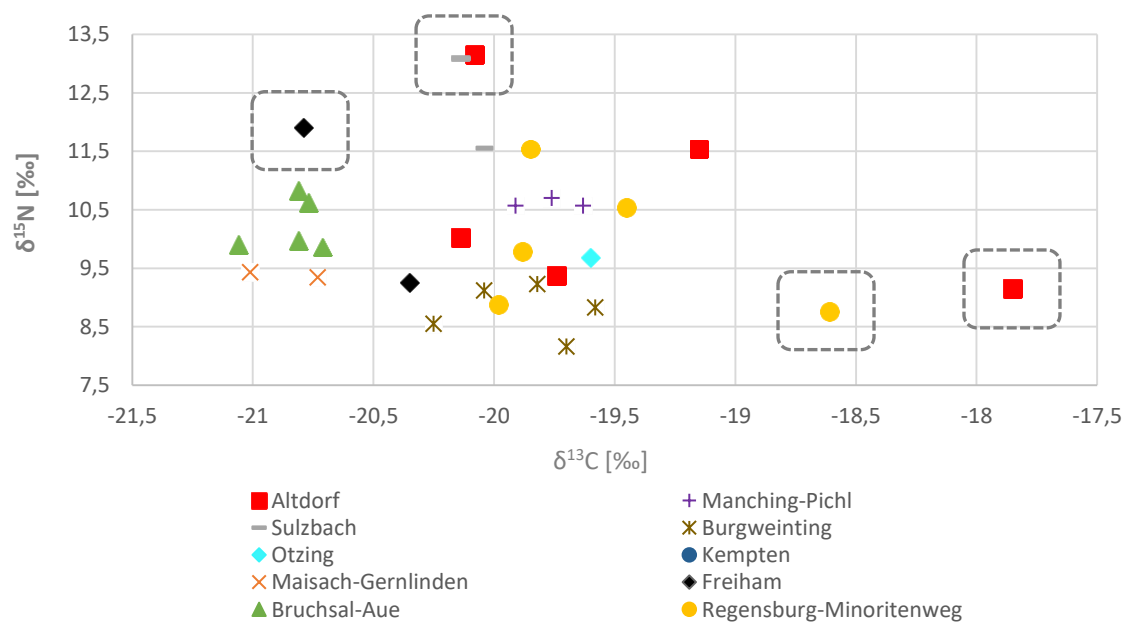


Abb. 4.28 Verteilung der Isotopenverhältnisse von Kohlenstoff und Stickstoff in den archäologischen Proben. Die jeweiligen Fundorte sind nach Farben sortiert, potenziell abweichende Werte sind hervorgehoben.

Tierische Vergleichsknochen

Generell zeigten die Knochen der unbestatteten Rehkadaver mit einem durchschnittlichen $\delta^{13}\text{C}$ -Wert von $-24,2 \text{ ‰}$ für die frischen Knochen und einem durchschnittlichen $\delta^{15}\text{N}$ -Wert von $3,1 \text{ ‰}$ die erwartete typische Isotopensignatur für herbivore Individuen. Reh 1 und Reh 9 wiesen dabei die niedrigsten $\delta^{13}\text{C}$ -Werte auf. Reh 1 zeigte außerdem auch für Herbivore extrem niedrige $\delta^{15}\text{N}$ -Werte, welche sich zwischen $1,3 \text{ ‰}$ und $1,9 \text{ ‰}$ bewegten. Ein Messfehler kann hier ausgeschlossen werden, da alle 3 akquirierten Knochen des Individuums ähnlich niedrige Werte aufwiesen. Auch der vom frischen Kadaver von Reh 7 gewonnene Knochen wies mit einem Wert von $\delta^{15}\text{N} = 2,11 \text{ ‰}$ eine sehr niedrige Stickstoff-Isotopensignatur auf. Der Wert stieg jedoch im Laufe der Depositionszeit bis zum zweiten Beprobungsintervall nach 178 Tagen um etwa 2 ‰ auf $\delta^{15}\text{N} = 4,13 \text{ ‰}$ an. Reh 9 zeigte einen deutlichen Anstieg des $\delta^{13}\text{C}$ -Wertes mit zunehmender Liegezeit der Knochen. So unterschieden sich die Werte des frischen Knochens und dem des ersten Beprobungsintervalls um $+1,3 \text{ ‰}$. Zwischen dem ersten und zweiten Beprobungsintervall lagen erneut $+1,2 \text{ ‰}$. Auch der $\delta^{15}\text{N}$ -Wert stieg kontinuierlich an, von ursprünglich $3,6 \text{ ‰}$ auf $5,1 \text{ ‰}$. Abb. 4.29 fasst alle Werte in einer Übersicht zusammen.

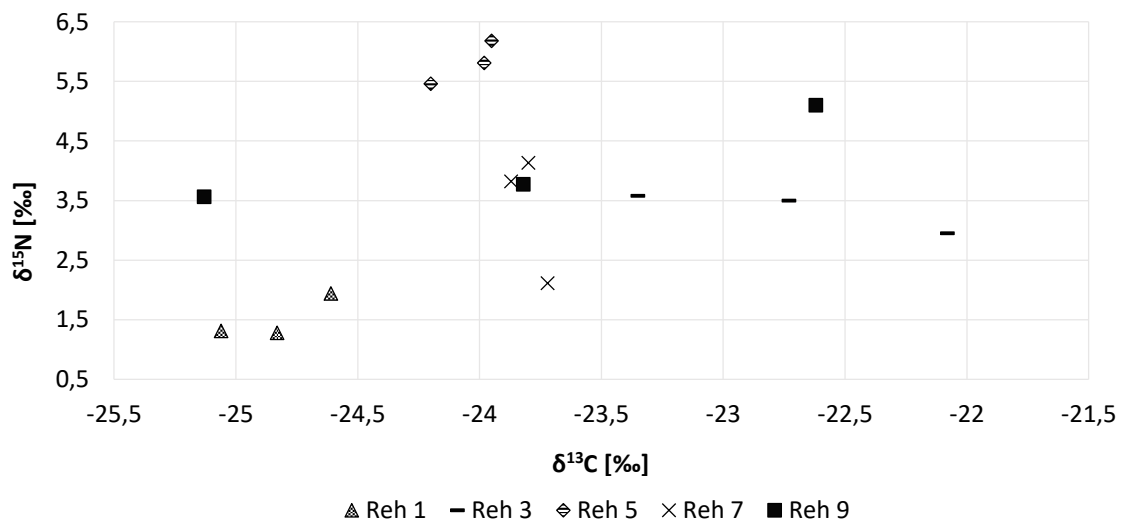


Abb. 4.29 Verteilung der Isotopenverhältnisse von Kohlenstoff und Stickstoff in den Knochen der unbestatteten Rehkadaver. Die größte Änderung der Werte weisen Reh 7 ($\delta^{15}\text{N}$) und Reh 9 ($\delta^{13}\text{C}$ und $\delta^{15}\text{N}$) auf. Die Daten der übrigen Individuen streuten weniger stark.

Ein allgemeiner Trend bezüglich der Entwicklung der Isotopenwerte über die Liegezeit lässt sich nicht formulieren, jedoch ist die Änderung der Werte in den meisten Proben, mit Ausnahme der Individuen Reh 3, Reh 7 und Reh 9 relativ gering und bewegt sich im Bereich unter 1 ‰ . Der Messfehler betrug $0,01 \text{ ‰}$ für $\delta^{13}\text{C}$ und $0,06 \text{ ‰}$ für $\delta^{15}\text{N}$.

Um auszuschließen, dass die beobachteten Änderungen der Isotopenwerte eine Konsequenz aus der Untersuchung unterschiedlicher Skelettelemente sein könnte, wurde ein potenzieller Zusammenhang statistisch analysiert. Es konnte jedoch keine Korrelation festgestellt werden.

4.1.3.3 Chromatographische Proteinanalytik (HPLC)

Alle Proben der bodengelagerten Stichprobenkollektive mit Ausnahme beider Proben aus Maisach-Gernlinden, welche eine zu geringe Kollagenausbeute für die Messung hatten, ($n = 73$), sowie die 3 frischen humanen Referenzknochen, alle chemisch degradierten Proben, welche genug Extrakt für die Analytik lieferten ($n = 31$), alle bakteriell degradierten Proben ($n = 18$) und die Hälfte der Rehknochen ($n = 15$) wurden chromatographisch auf ihre Aminosäurezusammensetzung hin untersucht.

Die Aminosäuren werden im Folgenden lediglich mit Abkürzungen bezeichnet, die vollen Namen sind im Anhang in Tabelle 8.6 aufgelistet.

Reihenmessung der Stichprobenkollektive

Die in den Messungen ermittelten Werte der humanen Probenkollektive wurden mit den Daten der frischen humanen Femora als Referenz für physiologisches, unverändertes Knochenkollagen verglichen, und als Vergleichsproben für die Rehknochen dienten die frischen Proben der jeweiligen Individuen. Vergleiche mit Referenzwerten aus der Literatur (z.B. Ambrose 1993) sind problematisch, da in der Regel weder die verwendete Hydrolysemethode noch Details zu den Messungen selbst bekannt sind, was einen deutlichen Einfluss auf die Interpretation der Ergebnisse haben kann. Aus Gründen der verlässlichen Reproduzierbarkeit wurden daher nur direkte Vergleiche mit eigenen Messungen gezogen. Tabelle 8.9 im Anhang zeigt eine Übersicht über die gemessenen Minima, Maxima, gemittelten Werte sowie der Standardabweichung der einzelnen im Kollagen vorkommenden Aminosäuren in nmol % für alle analysierten Stichprobensets, für welche die Daten im Folgenden im Detail ausgewertet wurden.

Die Beurteilung der Kollagenqualität anhand der Aminosäurezusammensetzung erfolgte zunächst anhand der in der Einleitung unter 1.5.1 aufgelisteten Qualitätskriterien. Tabelle 4.4 fasst diese für die gemittelten Werte der frischen Referenzproben und der bodengelagerten Probenkollektive zusammen. Für gly, pro und OH-pro lagen die durchschnittlichen Werte der Proben jeweils im vorgegebenen Normbereich. Jedoch fiel auf, dass im Fall des Quotienten aus gly/glu alle Probenkollektive aus dem Raster von gly/glu = 3 -5 für gut erhaltenes Kollagen herausfielen. Selbst einer der frischen, diagenetisch unveränderten Femora wies einen leicht höheren Wert als 5 auf.

Dasselbe Bild ergab sich bei der Analyse des gly/asp- Verhältnisses, dessen angegebene Spanne selbst durch die frischen Knochen fast um das Dreifache überschritten wurde. Dagegen unterschritten alle Werte die vorgegebene Toleranzspanne für das Verhältnis zwischen asp/gly, jedoch erscheinen diese extrem niedrig.

In Hinblick auf den Quotienten aus OH-pro und asp lagen alle Werte über der kritischen Schwelle von 1,5 und damit nach den Vorgaben im Normbereich. Die Gesamtkonzentration aller Aminosäuren pro mg Extrakt lag bei beiden Stichprobensets weit über der kritischen Grenzwert für ausreichenden Kollagenerhalt, welche mit 250 nmol/mg angegeben wird. Die frischen Referenzproben zeigten durchschnittlich eine doppelt so hohe Aminosäurekonzentration wie die Proben des Kollektivs Westfriedhof, welche wiederum etwa 20% mehr Aminosäuren/mg aufwiesen als die archäologischen Knochen.

Tabelle 4.4 Marker für die Kollagenqualität in den bodengelagerten Stichprobensets im Vergleich zu frischem Knochen.

		gly	pro	OH-pro	gly/ glu	gly/ asp	asp/ gly	OH-pro/ asp	nmol AS/ mg
frische Knochen	<i>Min</i>	33,74	11,95	9,27	4,49	14,78	0,03	4,11	3947,00
	<i>Max</i>	34,78	15,15	11,76	5,44	30,01	0,07	10,30	8061,59
	<i>2σ</i>	0,42	1,34	1,06	0,39	7,14	0,02	2,90	1883,82
	\bar{x}	34,25	13,34	10,29	5,02	19,92	0,06	6,20	5401,33
Westfriedhof	<i>Min</i>	32,41	10,29	7,61	4,20	12,05	0,03	3,37	336,66
	<i>Max</i>	44,06	14,62	10,51	20,31	28,68	0,08	7,38	7053,09
	<i>2σ</i>	2,84	0,94	0,73	3,40	3,57	0,01	0,76	1334,76
	\bar{x}	36,41	12,57	9,34	6,90	16,22	0,06	4,13	2768,69
arch. Knochen	<i>Min</i>	29,14	11,80	7,45	3,69	11,26	0,01	3,45	179,37
	<i>Max</i>	37,65	18,25	11,01	371,65	88,99	0,09	21,55	5283,18
	<i>2σ</i>	2,55	1,20	0,90	77,62	13,61	0,02	3,04	1491,25
	\bar{x}	34,50	13,79	9,39	31,44	19,91	0,07	5,19	2228,92

Aufgrund der Tatsache, dass selbst die frischen, diagenetisch sicher unveränderten und auch physiologisch nicht auffälligen Referenzknochen hinsichtlich der Kriterien des Anteils von pro und OH-pro sowie teilweise der Verhältnisse von gly/glu und gly/asp aus dem in der Literatur vorgegebenen Rahmen für ausreichend gut erhaltenes Kollagen herausfielen, wurden die Qualitätskriterien für die Beurteilung des Kollagenerhalts der untersuchten Proben an die vorliegende Studie angepasst.

Da die physiologisch normale Spanne für die prozentualen Anteile bestimmter Aminosäuren weiter gefasst zu sein scheint, als ursprünglich angenommen, wurde diese für pro, OH-pro und das Verhältnis von gly/ glu an die Werte der frischen Knochen angepasst. Weiterhin wurde der Anteil von glu selbst in die Auswertung mit einbezogen, da die Werte für diese Aminosäure innerhalb der Probenkollektive mit die stärksten Schwankungen aufwiesen. Verhältnisse, welche mit asp gebildet werden, wurden aus der Auswertung ausgeklammert, da auch die Referenzproben für asp sehr starke Schwankungen zeigten und ein Hydrolyseartefakt an dieser Stelle nicht vollständig ausgeschlossen werden kann.

Der Grenzwert für die Beurteilung der Gesamtaminosäurekonzentration wurde von > 250 nmol/mg auf > 500 nmol/mg erhöht.

Tabelle 4.5 zeigt die nach den vorangegangenen Überlegungen modifizierten Qualitätskriterien für die Beurteilung der Integrität des Aminosäureprofils mit den neuen Grenzwerten, und Tabelle

4. ERGEBNISSE

4.6 fasst die daraus resultierende Einteilung der Kollagenqualität der untersuchten Proben zusammen.

Tabelle 4.5 Angepasste Qualitätskriterien für die Beurteilung der Konservierung von Kollagen.

Marker	Grenzwerte (alt)	Grenzwerte (neu)
gly	31 - 37	31 - 37
pro	8 - 14	8 - 16
glu	-	5 - 8
OH-pro	7 - 11	7 - 12
gly/ glu	> 2,5	4 - 7
nmol AS/ mg	> 250	> 500

Tabelle 4.6 Bewertung der Kollagenqualität anhand der Aminosäureprofile.

Kollagenqualität ASA	Abweichung Kriterien
Sehr gut	keine
Gut	1
Mäßig	2
Schlecht	3
Sehr schlecht	4 oder mehr

Experimentelle chemische Degradation

Die über 32 Tage in heißem Wasser inkubierten Knochenproben zeigten insgesamt sehr hohe Variationen in den Aminosäureausbeuten im Vergleich zu den Standardabweichungen in den Werten der frischen Referenzknochen. Am stärksten hiervon betroffen waren OH-pro, glu, pro, gly, ala, leu, lys und arg. Jedoch verlief das Konzentrationsmuster in den drei Einzelproben sehr unterschiedlich, wie in Abb. 4.31 dargestellt. Die Aminosäureanteile in den Proben von Femur 1 waren sehr starken Schwankungen unterworfen und durch zwei große generelle Einbrüche der Werte im Laufe der Inkubationszeit gekennzeichnet.

Die Aminosäurewerte von Femur 2 dagegen zeigten sich mit Ausnahme von glu und OH-lys erstaunlich konstant über die Inkubationszeit. Erst ab Tag 20 war ein rapider Abfall der Daten erkennbar, wobei auch hier für pro und OH-pro als einzige Aminosäuren ein Anstieg verzeichnet wurde. Bei Femur 3 blieben die Aminosäurekonzentrationen im Vergleich der drei Proben insgesamt am stabilsten. Auch hier konnten die größten Schwankungen in den Werten von glu und OH-lys beobachtet werden.

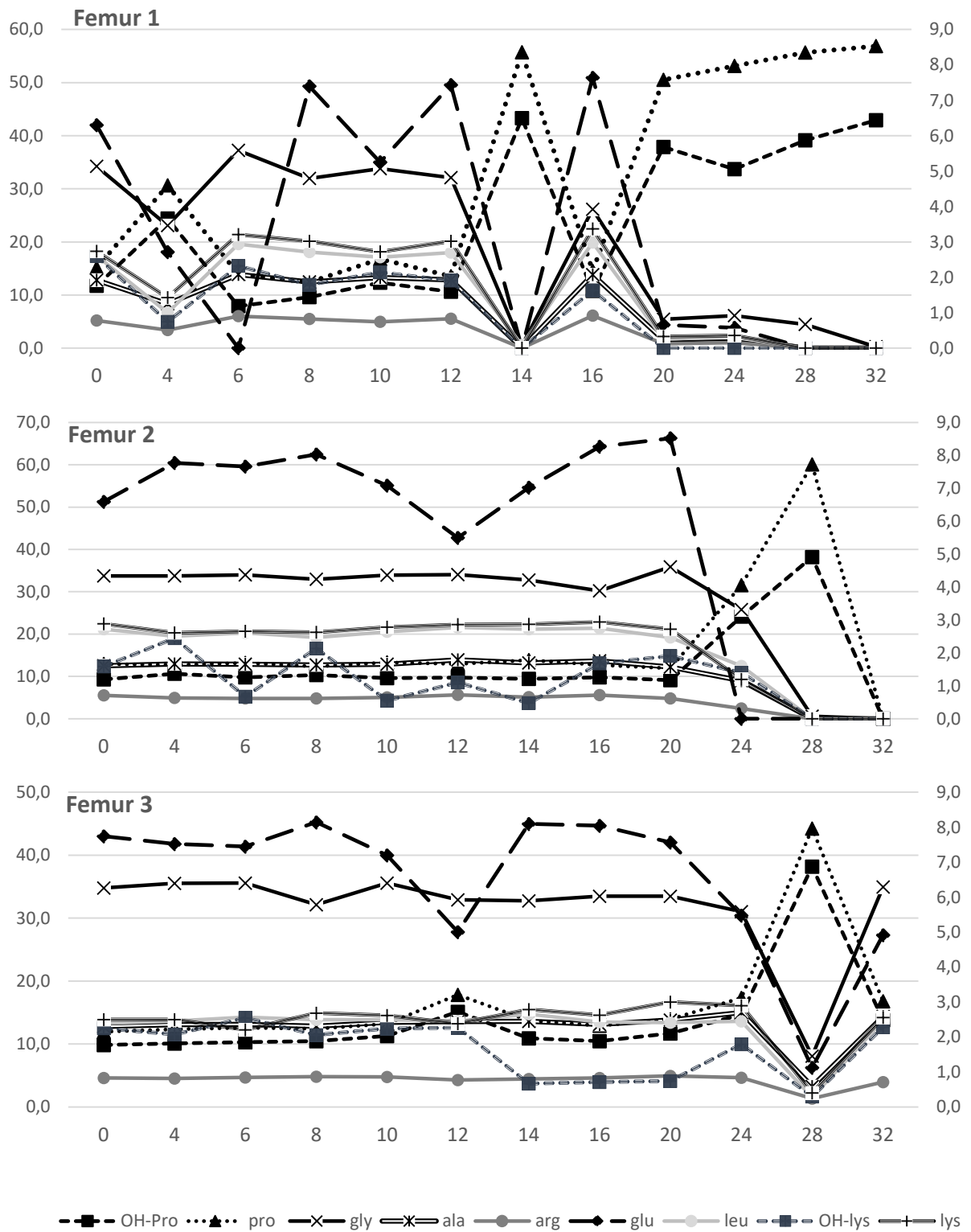
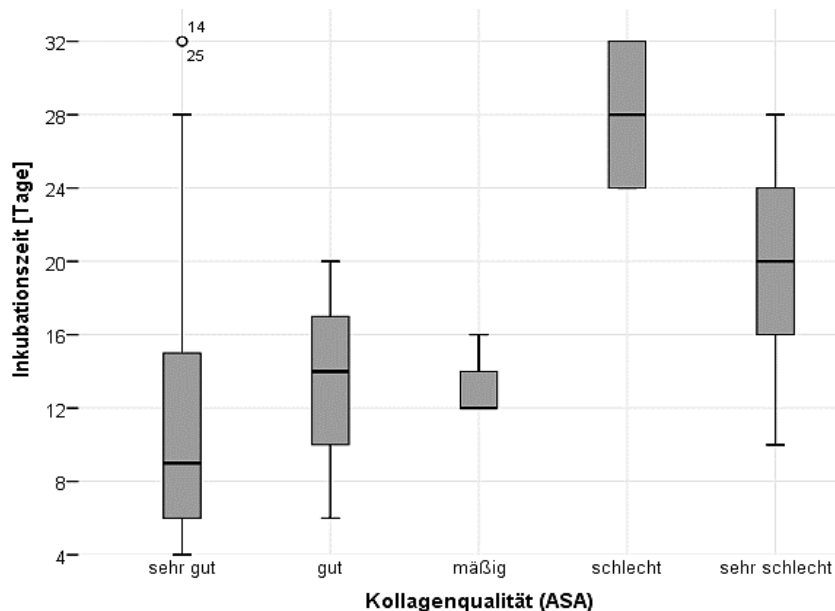


Abb. 4.31 Konzentrationsverlauf der Aminosäuren [nmol%] mit der höchsten Standardabweichung für die drei Einzelproben über die Inkubationszeit. Während die Aminosäurekonzentrationen in Femur 2 und 3 über weite Strecken bis zum Ende des Versuchs vergleichsweise stabil blieben, zeigte Femur 1 enorme Schwankungen.

4. ERGEBNISSE

Die anhand der Aminosäurezusammensetzung bestimmte Kollagenqualität zeigte eine hoch signifikante Korrelation mit der Inkubationszeit ($R = -0,461$, $T = -0,421$), wobei die Spanne sehr gut erhaltenen Kollagens fast über den gesamten Versuchszeitraum reichte. Ein sehr stark verändertes Aminosäureprofil konnte bereits nach 10 Tagen Kochzeit beobachtet werden (siehe Abb. 4.32). Fast alle Aminosäuren zeigten einen statistisch hoch signifikanten Zusammenhang mit dem prozentualen Kohlenstoff- und Stickstoffgehalt des Kollagens sowie dem molaren C/N-Verhältnis.



Die stärksten Korrelationen mit sehr hohen Korrelationskoeffizienten ($R > 0,800$) konnten zwischen OH-pro und C/N, asp, met, his und % C beobachtet werden.

Abb. 4.32 Verteilung der anhand der Aminosäurezusammensetzung festgestellten Kollagenqualität über die Inkubationszeit.

Experimentelle bakterielle Degradation

Der Vergleich der Standardabweichungen zwischen den Aminosäurewerten der mit Bakterien beimpften Knochen und jenen der frischen Referenzknochen zeigte für fast alle analysierten Aminosäuren geringe Abweichungen in den Daten der experimentell degradierten Proben auf. Lediglich im Fall von gly und val schwankten die Werte in den angeimpften Knochen stärker als in den frischen Vergleichsproben.

Zwischen den drei Femora bestand jedoch kein statistisch feststellbarer Unterschied hinsichtlich der Gesamtaminosäurekonzentration nach Ende der Inkubationszeit (Kruskal-Wallis-H-Test), aber es konnte eine signifikante Differenz zwischen den inkubierten Proben und den frischen Referenzknochen festgestellt werden (Mann-Whitney-U-Test, $p = 0,006$).

Weiterhin wurde hinsichtlich der Konzentration der einzelnen Aminosäuren zwischen den unter aeroben und anaeroben Bedingungen inkubierten Knochen ein statistisch signifikanter Unterschied in Bezug auf OH-pro ($p = 0,011$), pro ($p = 0,040$), lys ($p = 0,001$) sowie arg ($p = 0,003$) beobachtet (Mann-Whitney-U-Test). Die Ergebnisse zwischen den 4 Bakterienspezies unterschieden sich statistisch nicht signifikant (Kruskal-Wallis-H-Test).

Generell waren die Werte für die verschiedenen Aminosäuren über das Gesamtprobenkollektiv der bakteriell degradierten Proben relativ konstant, jedoch fiel bei der unter aeroben Bedingungen inkubierten Kontrolle von Femur 3 ein extrem hoher val- Wert auf, welcher die bei den übrigen Proben gemessenen Werte um fast das Fünffache überstieg. Zugleich waren hier die Werte für andere Aminosäuren (thr, ile, phe, his, arg) teils deutlich erniedrigt. Die unter anaeroben Bedingungen inkubierte Kontrolle von Femur 3 wies erniedrigte Werte für thr, ser, phe und his auf. Ebenso niedriger als der Durchschnitt waren die thr- und ser-Werte der frischen Referenzprobe Femur 1. Die gezielt mit Bakterien beimpften Proben zeigten untereinander nur geringe Schwankungen in den Werten.

Es konnten ebenso diverse statistisch hoch signifikante Assoziationen zwischen den proteinogenen und nicht-proteinogenen Aminosäuren festgestellt werden, welche teilweise durch sehr hohe Korrelationskoeffizienten ($> 0,600$) gekennzeichnet waren. Besonders stark, mit Korrelationskoeffizienten $> 0,800$, war der Zusammenhang zwischen asp und P-ser, glu und P-ser sowie gly und b-ala. Auffällig war, dass auch zahlreiche andere Aminosäuren eine hoch signifikante, wenn auch leicht schwächere Korrelation mit der Konzentration von P-ser zeigten (thr, ser, tyr, OH-lys). Auch mit aaaa korrelierten einige Aminosäuren (glu, pro, ala, OH-lys, lys), ebenso wie mit b-ala (pro, ala, tyr).

Die Kollagenqualität war in allen Proben sehr gut. Erstaunlich konstant war insbesondere das gly/glu-Verhältnis, welches mit einer Standardabweichung von lediglich 0,23 schwankte.

Für keine Aminosäure konnte eine statistisch signifikante Korrelation mit dem prozentualen Kohlenstoffanteil nachgewiesen werden, und mit dem prozentualen Stickstoffanteil zeigte nur met einen schwach signifikanten Zusammenhang mit niedrigem Korrelationskoeffizienten ($R < 0,400$). Das molare C/N-Verhältnis korrelierte schwach signifikant mit leu, phe und his ($R < 0,400$). %C und %N dagegen wiesen einen hoch signifikanten Zusammenhang auf ($R = 0,843$).

Bodengelagerte Proben

Die beiden bodengelagerten Stichprobenkollektive mit kurzen und langen Liegezeiten unterschieden sich hinsichtlich der gemessenen Konzentrationen einiger Aminosäuren. So wichen die Konzentrationen im Fall von asp*, thr*, ser**, pro**, gly*, val**, met*, ile**, leu**, tyr**, phe**, his**, OH-lys**, lys** und in den beiden Stichprobensets statistisch signifikant (*) bzw. hoch signifikant (**) voneinander ab (Mann-Whitney-U-Test).

Der Vergleich zwischen den Aminosäurekonzentrationen der frischen Knochen mit denen der bodengelagerten Proben ergab lediglich für met und OH-lys einen signifikanten Unterschied. Dasselbe statistische Resultat zeigte sich für den Vergleich zwischen frischen Proben und Westfriedhof (Mann-Whitney-U-Test).

Die größte Variabilität in den Aminosäurekonzentrationen (Standardabweichung > 1) konnte im Probenkollektiv Westfriedhof im Fall der Aminosäuren glu und gly beobachtet werden, bei den archäologischen Proben waren glu, pro, gly, ala und arg betroffen. Jedoch zeigten auch die frischen Proben teilweise eine hohe Variabilität, insbesondere in Bezug auf OH-pro und pro.

4. ERGEBNISSE

Die vergleichende Analyse der einzelnen archäologischen Fundorte ergab weiterhin einen statistisch signifikanten bzw. hoch signifikanten Unterschied in den Konzentrationen der meisten Aminosäuren zwischen den Fundplätzen (Kruskal-Wallis-H-Test). Lediglich für ala konnte kein statistischer Unterschied belegt werden.

Die Konzentration einiger Aminosäuren zeigte einen statistisch signifikanten Zusammenhang mit der Liegezeit (nach Spearman). Bezogen auf die Auswertung des gesamten Kollektivs der bodengelagerten Proben waren dies pro, gly, met, ile, leu, tyr, phe, his, OH-lys, lys und arg. Für die Proben des Westfriedhofs konnte nur ein sehr schwacher Zusammenhang zwischen ile und der Liegezeit hergestellt werden, die Konzentrationen der übrigen Aminosäuren wiesen keine Assoziationen auf.

Im Hinblick auf die gemessenen Konzentrationen im Kollagen normalerweise nicht vorkommender Aminosäurederivate oder Dipeptide fielen die größten Variationen sowohl in den frischen Knochen als auch bei den bodengelagerten Proben hinsichtlich der Menge von car sowie Ammonium, dem Deaminierungsprodukt von Aminosäuren, auf.

Die Evaluierung der Daten nach den weiter oben (Tabelle 4.5, Seite 120) festgesetzten Qualitätskriterien für die Aminosäurezusammensetzung des Kollagens zeigt, dass 54 % der Proben vom Westfriedhof (n = 27) alle Kriterien erfüllen konnten und somit eine sehr gute Kollagenkonservierung aufwiesen.

Bei den archäologischen Proben erfüllten 36 % der Knochen (n = 12) alle Qualitätskriterien und zeigten somit einen sehr guten Kollagenerhalt. Abb. 4.33 fasst die Ergebnisse in einer Übersicht zusammen. Dabei zeigte sich bei den archäologischen Knochen kein Zusammenhang zwischen der Kollagenqualität und den einzelnen Fundorten.

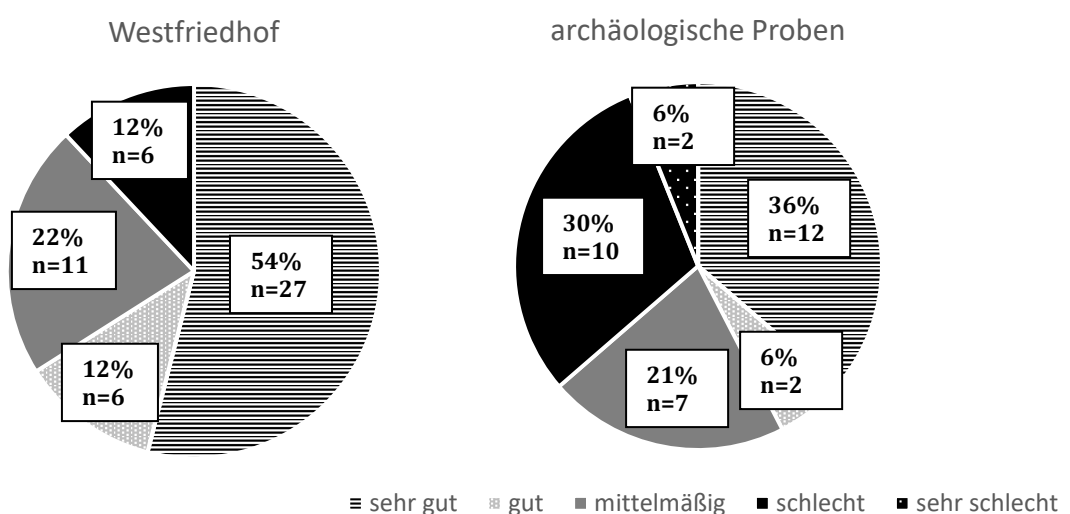


Abb. 4.33 Übersicht über die Bewertung der Kollagenqualität in den bodengelagerten Stichproben nach den festgesetzten Kriterien (Prozentangaben gerundet).

Rehknochen

Die ermittelten Daten der im Kollagen vorkommenden Aminosäuren für die unbestatteten Rehknochen unterschieden sich weder nach 3 noch nach 6 Monaten Liegezeit signifikant von den Ausgangswerten der frischen Proben (Mann-Whitney-U-Test).

Die Schwankungen in den Werten, ausgedrückt in der Standardabweichung, war innerhalb der frischen und der degradierten Knochen relativ ähnlich, wobei die größten Varianzen bei glu, pro und ala auftraten. Lediglich arg fiel durch eine wesentlich höhere Varianz in den Knochen des ersten und zweiten Beprobungsintervalls auf.

Es konnte kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen der Depositionszeit und den Aminosäurekonzentrationen hergestellt werden (nach Spearman).

In Hinblick auf die Konzentration der gemessenen nicht-kollagenen Aminosäuren, Aminosäurederivate oder Dipeptide fiel auf, dass die Proben des zweiten Beprobungsintervalls im Schnitt zum Teil deutlich höhere Konzentrationen von car, gaba und Ammonium aufwiesen als die frischen Knochen und die nach 3 Monaten akquirierten. Jedoch waren hier auch generell die Schwankungen in den Werten zwischen den einzelnen Proben am höchsten.

Im Hinblick auf potenzielle Zusammenhänge mit nicht-proteinogenen Molekülen vielen besonders zahlreiche statistisch hoch signifikante Zusammenhänge mit car, trp und NH_4^+ auf. So zeigten OH-pro, asp, ser, glu und OH-lys eine sehr starke ($R > 0,800$) inverse Beziehung zu car und trp, und die Aminosäuren pro, gly, val und phe zu NH_4^+ .

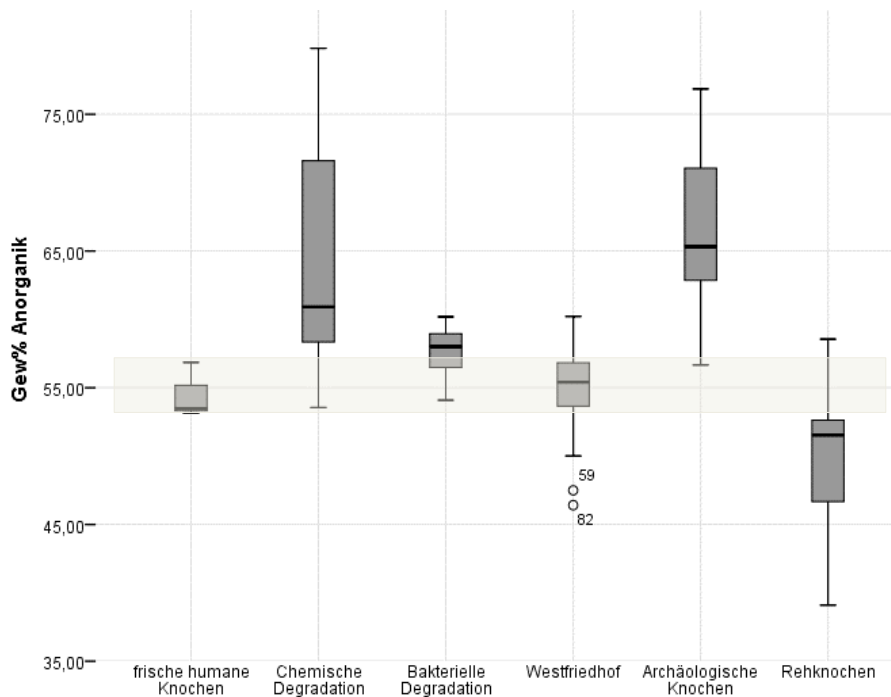
Bei der Beurteilung der Kollagenqualität nach den weiter oben beschriebenen Qualitätsmarkern wurde auf die Bewertung von glu sowie gly/glu verzichtet, da einige Proben einen sehr niedrigen glu-Wert bzw. einen Totalausfall des Wertes zeigten. Darunter befanden sich auch die beiden frischen Knochen von Reh 3 und Reh 5, bei denen keine Degradation des Kollagens stattgefunden haben kann. Die Konzentrationen der restlichen Aminosäuren schienen dagegen normal zu sein. Da die entsprechenden Chromatogramme auch keinen Peak für Glutamin anzeigten, wird ein Hydrolysefehler, der auf eine unvollständige Hydrolyse hinweist, ausgeschlossen.

Da sich durch den Ausfall einer Aminosäure auch die Verhältnisse der anderen leicht verschieben, erfolgte die Beurteilung der Kollagenqualität vielmehr anhand interner Vergleiche mit den Proben derselben Serie, um falsche Schlussfolgerungen zu vermeiden. Vor diesem Hintergrund wurden schließlich alle Proben hinsichtlich ihrer Kollagenqualität als sehr gut erhalten eingestuft, obwohl 2 Proben den Grenzwert für pro leicht überschritten (Reh 3, frisch und Reh 5, 178 Tage) und weitere 2 Proben minimale Abweichungen für gly und pro zeigten. Dies kann in direkten Zusammenhang mit einem Teil- oder Vollaussfall des glu-Peaks gebracht werden, der zu einer leichten Verschiebung der anderen Aminosäureverhältnisse geführt hat.

4.1.4 Untersuchungen am Mineral des Knochens

4.1.4.1 Prozentualer Gewichtsanteil der anorganischen Fraktion

Das prozentuale Gewicht der anorganischen Knochenfraktion nach der Deproteinierung stellt lediglich ein quantitatives Maß dar und ist reziprok mit dem Gewichtsanteil der organischen Komponente gekoppelt (Spearman $R = -0,657$, $p = 0,000$). Abb. 4.34 zeigt die ermittelten prozentualen Gewichtsanteile der Anorganik in den untersuchten Stichprobenkollektiven. Dabei unterschieden



sich die prozentualen anorganischen Gewichtsanteile zwischen den Probenkollektiven hoch signifikant (Kruskal-Wallis-H-Test, $p = 0,000$).

Abb. 4.34 Verteilung des prozentualen Gewichts der anorganischen Knochenfraktion nach Deproteinierung. Der Wertebereich der frischen humanen Referenzknochen ist grau unterlegt.

Experimentelle chemische Degradation

Das prozentuale Gewicht der anorganischen Knochenfraktion variierte erwartungsgemäß in den experimentell chemisch degradierten Proben sehr stark ($2\sigma = 7,40$). Das durchschnittliche Minimum lag mit 54,5 Gew% bei den frischen, unveränderten Knochen, während der maximale Gewichtsanteil der anorganischen Fraktion am 24. Inkubationstag festgestellt wurde (76,8 %). Bis zum Ende der Inkubation am 32. Tag fiel das prozentuale Gewicht der anorganischen Fraktion wieder leicht ab.

Abb. 4.35 zeigt den Verlauf der Gewichtsausbeute für die drei Femora über die Inkubationszeit. Interessant war der prozentuale Anstieg des Gewichts am 4. Inkubationstag, welcher unmittelbar von einem sofortigen Gewichtsrückgang abgelöst wurde. Ein erneuter Anstieg mit anschließendem Rückgang war an den Versuchstagen 10 und 14 zu beobachten. Danach nahm der prozentuale Gewichtsanteil der Anorganik stetig zu und brach erst nach dem 24. Tag erneut ein.

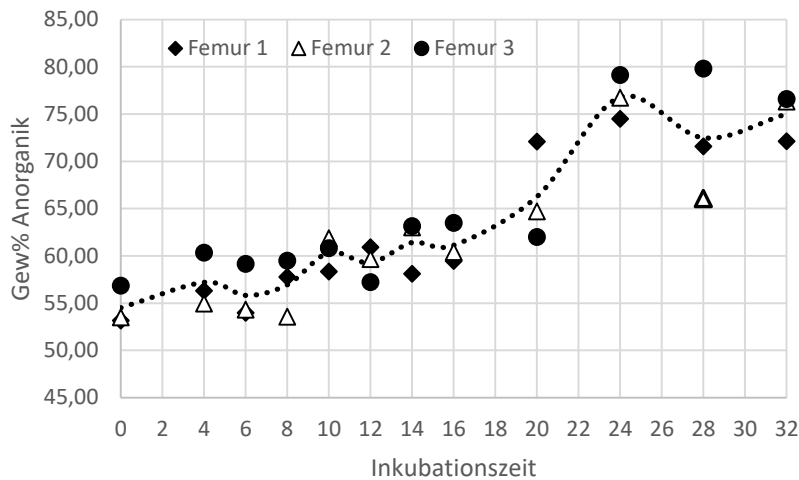


Abb. 4.35 Verlauf des prozentualen Gewichts der anorganischen Knochenfraktion über die Inkubationszeit in heißem Wasser. Die gestrichelte Linie stellt den Verlauf der gemittelten Werte für die 3 Proben dar.

Experimentelle bakterielle Degradation

Die Gewichtsanteile der anorganischen Knochenfraktion in den mit Mikroorganismen beimpften Knochenproben zeigten große Schwankungen ($2\sigma = 3,05$) und unterschieden sich zum Teil erheblich von den frischen, unbeimpften Referenzknochen. Das geringste prozentuale Gewicht der Anorganik lag bei 54,1 Gew% (Femur 2, *C. histolyticum*), der höchste Gewichtsanteil bei 60,2 Gew% (Femur 3, NK anaerob). Zwischen den drei Femora waren deutliche Unterschiede auszumachen. Im Fall von Femur 1 waren die Schwankungen in den Gewichtsanteilen der anorganischen Fraktion am stärksten ($2\sigma = 1,99$), wobei die starke prozentuale Zunahme hier jeweils bei den angeimpften Proben beobachtet werden konnte (am deutlichsten bei der mit *P. fluorescens* beimpften Probe). Die relative prozentuale Gewichtszunahme der Anorganik bei den beiden Kontrollen fiel nur gering aus (vgl. Abb. 4.36).

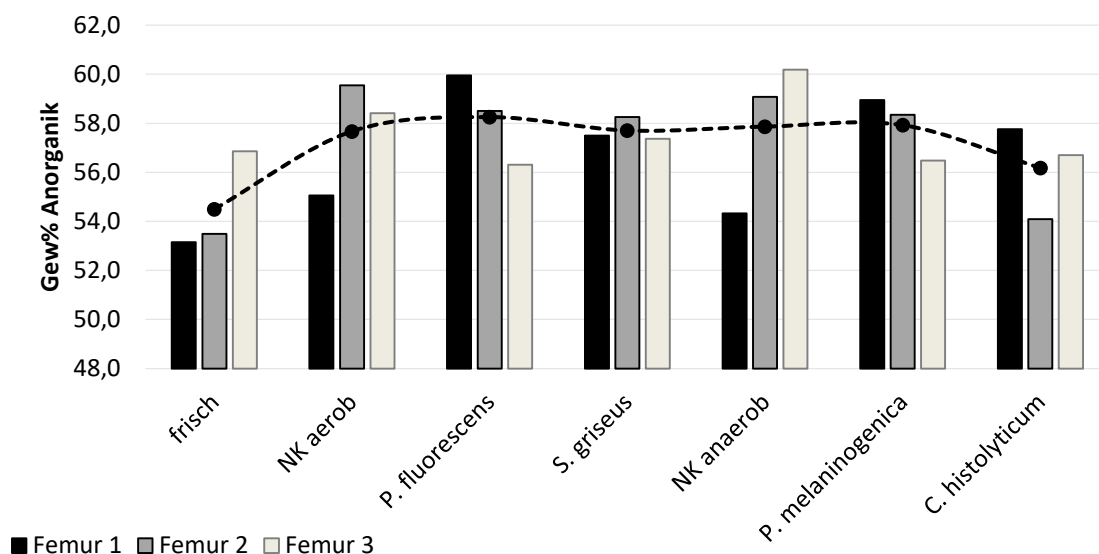


Abb. 4.36 Verteilung des prozentualen Anteils der anorganischen Knochenfraktion nach der Deproteinierung der experimentell bakteriell beimpften Proben. Die gestrichelte Linie stellt den gemittelten Wert der drei untersuchten Femora dar. In allen Proben des Experiments war eine Zunahme des prozentualen Anorganikanteils im Vergleich zu den frischen Referenzknochen erkennbar. NK = Negativkontrolle.

4. ERGEBNISSE

Bei Femur 2 und 3 dagegen waren auch die unbeimpften Kontrollen von einem deutlichen Gewichtsanstieg der anorganischen Komponente betroffen und zeigten sogar höhere Gewichtsanteile als die jeweils gezielt mit Mikroorganismen beimpften Proben (Femur 2, NK aerob; Femur 3, NK anaerob). Femur 3 wies insgesamt nur relativ geringe Schwankungen in den anorganischen Gewichtsanteilen auf ($2\sigma = 1,36$).

Bodengelagerte Proben

Die beiden bodengelagerten Stichprobenkollektive unterschieden sich hoch signifikant hinsichtlich ihres prozentualen Anteils der anorganischen Knochenfraktion (Mann-Whitney-U-Test, $p = 0,000$). Die archäologischen Proben zeigten im Schnitt deutlich höhere Werte als die Proben des Westfriedhofs, und auch die Varianz innerhalb des Probenkollektivs war höher (vgl. Tabelle 4.7).

Daher bestand auch ein statistisch hoch signifikanter Zusammenhang des Merkmals mit der Liegezeit (Spearman $R = 0,730$, $p = 0,000$).

Einen Gewichtsanteil von unter 50 % wies mit 46,4 % lediglich

Tabelle 4.7 Verteilung des prozentualen Gewichts der anorganischen Knochenfraktion in den bodengelagerten Stichprobenkollektiven.

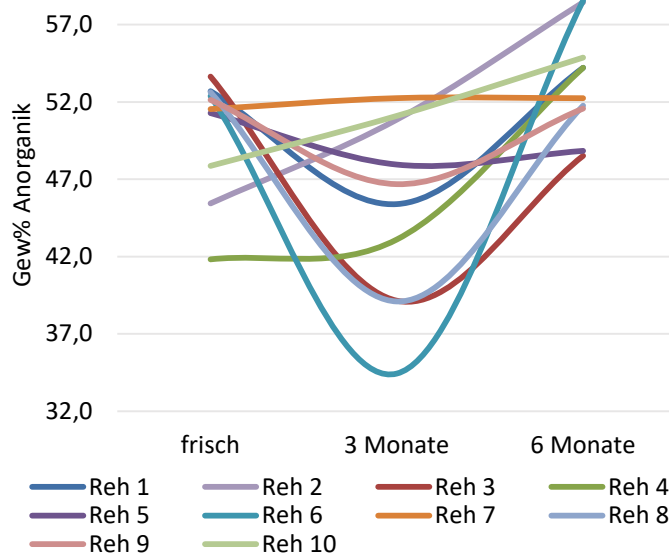
	Min	Max	2σ
Westfriedhof	46,4	60,2	2,8
archäologische Proben	56,7	76,9	5,6

eine Probe auf (WF 29b). Ein Wert von über 60 % wurde bei lediglich einem Knochen des Probenkollektivs Westfriedhof beobachtet (WF 22), während alle archäologischen Knochen mit Ausnahme von MP 68, MWL 137, MWL 408 und SB 664 diesen Wert überstiegen. Bei 31 % der Proben ($n = 11$) konnte sogar ein prozentualer mineralischer Anteil von über 70 % festgestellt werden (MP 54, MWL 193, FH 3419, FH 3520, MG 1340, BW 9, BW 10, BW 14, Alt 1, Alt 220, BrA 3). Innerhalb der einzelnen Fundorte konnte kein allgemeiner Trend beobachtet werden.

Tierisches Vergleichskollektiv

Bei der Auswertung des prozentualen Anteils der mineralischen Fraktion am Gesamtgewicht des Knochens bei den unbestatteten Rehkadavern fiel eine hohe Varianz des Werts bereits bei den untersuchten frischen Knochen auf (41,8 % – 53,6 %; $2\sigma = 3,7$ %).

Drei Individuen zeigten Werte unter 50 % (Reh 2, Reh 4, Reh 10), alle anderen konzentrierten sich um einen mittleren Wert von etwa 52 %. Auffällig war, dass die Knochen des ersten Beprobungsintervalls mehrheitlich, in 7 von 10 Fällen, erniedrigte Gewichtsanteile der anorganischen Komponente aufwiesen. Der Durchschnittswert sank von anfangs 50,1 % auf 45,0 % nach 3 Monaten Liegezeit ab (niedrigster Wert 34,4 %, Reh 6). Hierbei waren die Schwankungen zwischen den 10 Knochen mit einer Standardabweichung von 5,7 % besonders hoch.



In den Knochen des zweiten Beprobungsintervalls nach etwa 6 Monaten stieg der prozentuale Anteil der anorganischen Knochenfraktion in 8 von 10 Fällen erneut an und lag mit einem durchschnittlichen Wert von 53,6 % über dem Ausgangswert der frischen Knochen (siehe Abb. 4.37).

Abb. 4.37 Prozentualer Gewichtsanteil der anorganischen Knochenfraktion am Gesamtknochengewicht nach Deproteinierung in den unbestatteten Rehknochen. Deutlich erkennbar ist der relative Gewichtsverlust nach 3 Monaten Liegezeit.

4.1.4.2 Analyse stabiler Kohlenstoff- und Sauerstoffisotope aus dem strukturellen Carbonat

Die Analyse der stabilen Isotope von Kohlenstoff und Sauerstoff aus dem strukturellen Knochen-carbonat wurde an allen Proben des chemischen Degradationsversuchs inklusive der frischen, unveränderten Referenzknochen ($n = 36$), den bakteriell angeimpften Proben ($n = 18$), den frühdiagenetisch veränderten, bodengelagerten Proben ($n = 50$), den archäologischen Proben ($n = 35$) sowie der Hälfte der Rehknochen ($n = 15$) durchgeführt.

Experimentelle chemische Degradation

Die Analyse der stabilen Isotope von C und O über den Inkubationszeitraum in heißem Wasser ergab ein unterschiedliches Bild hinsichtlich des Verhaltens der Isotopenverhältnisse der beiden Elemente.

Während der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert über den gesamten Versuchszeitraum kaum Veränderungen zeigte ($2\sigma = 0,28$), wies der $\delta^{18}\text{O}$ -Wert einen linearen Negativtrend auf, welcher bis zum 6. Versuchstag eine Abreicherung des schweren Sauerstoffisotops um 3 ‰ bewirkte. Danach stieg der $\delta^{18}\text{O}$ -Wert kurzzeitig wieder leicht an (um etwa 1 ‰), bevor er ab dem 10. Tag erneut abfiel (Abb. 4.38). Über den gesamten Versuchszeitraum fiel der $\delta^{18}\text{O}$ -Wert damit um insgesamt 4,1 ‰ ab, was einen massiven Verlust des schweren Sauerstoffisotops aus dem Gewebe bzw. die Inkorporierung von isotopisch leichtem Sauerstoff in das Gewebe andeutet.

4. ERGEBNISSE

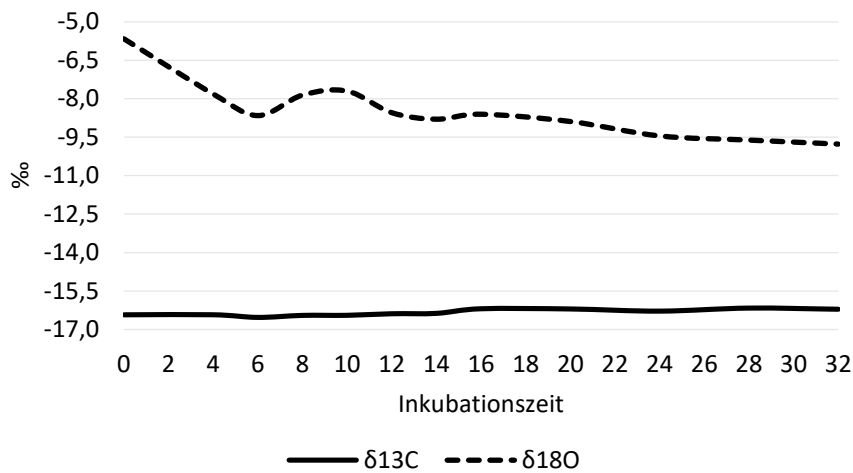


Abb. 4.38 Darstellung der gemittelten Isotopenverhältnisse von Kohlenstoff und Sauerstoff aus dem strukturellen Knochencarbonat über die Inkubationszeit.

Experimentelle bakterielle Degradation

Die experimentell bakteriell degradierten Proben wiesen zum Teil erhebliche Schwankungen in den Verhältnissen der stabilen Isotope des Knochencarbonats auf, wobei die $\delta^{18}\text{O}$ -Werte besonders stark betroffen waren. In fast allen untersuchten Proben sanken die Sauerstoffwerte im Vergleich zu den frischen Referenzknochen ab (vgl. Abb. 4.39). Am deutlichsten war dies bei der mit *P. melaninogenica* beimpften Probe von Femur 3 erkennbar, hier sank der $\delta^{18}\text{O}$ -Wert um 2,7 ‰. Aber auch bei 3 anderen Proben (Femur 3, Kontrolle anaerob: 1,5 ‰; Femur 1, Kontrolle anaerob: 1,3 ‰; Femur 1, Kontrolle aerob: 1,3 ‰) konnte eine starke Abnahme des $\delta^{18}\text{O}$ -Werts beobachtet werden.

Die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte bewegten sich insgesamt in einer engeren Spanne (maximale Differenz 0,7 ‰), jedoch fielen auch hier einige tendenzielle Abweichungen im Vergleich zu den frischen Knochen auf. Die Proben von Femur 2 und 3 zeigten im Vergleich zu den Ausgangswerten durchgehend eine Zunahme der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte, was sich besonders deutlich in den Proben Femur 3, *P. fluorescens*, Femur 2, Kontrolle (anaerob) und Femur 2, *C. histolyticum* manifestierte. Femur 1 wies eher eine Verschiebung in den negativeren Bereich auf, wobei sich die Probe Femur 1, Kontrolle (anaerob) deutlich von den übrigen Werten abhob. Es zeigte sich außerdem, dass der Trend der Sauerstoff-Isotopenwerte nicht zwangsläufig mit den Kohlenstoff-Isotopenwerten gekoppelt war.

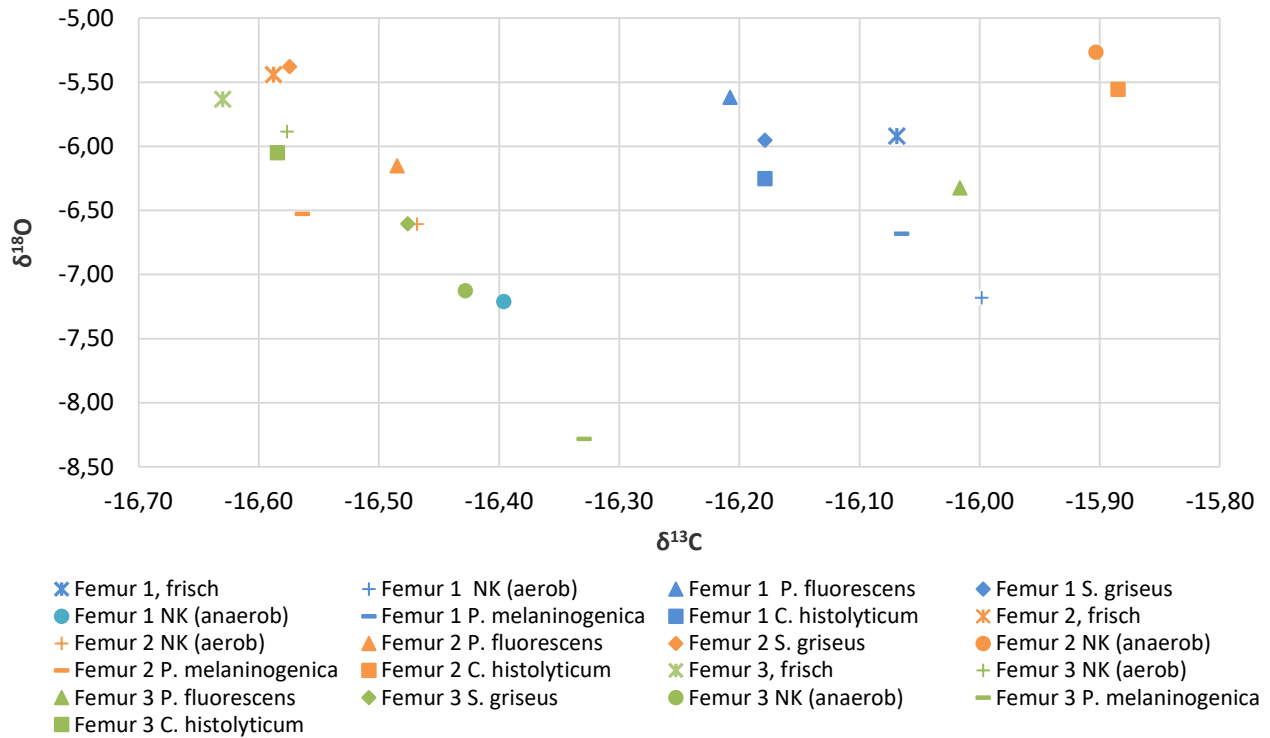
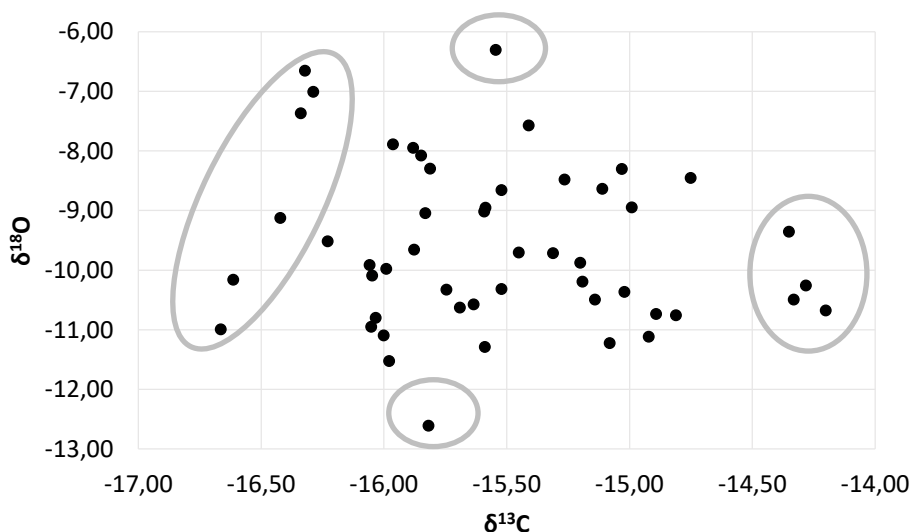


Abb. 4.39 Darstellung der Verhältnisse der stabilen Kohlenstoff- und Sauerstoffisotope in den mit Bakterien beimpften Knochenproben. Besonders der $\delta^{18}\text{O}$ -Wert war teilweise von starken Veränderungen betroffen.

Bodengelagerte Proben

Da für die bodengelagerten Proben kein Referenzwert verfügbar ist, welcher das *in vivo* Isotopenverhältnis des Gewebes anzeigt, wurden im Zuge der graphischen Darstellung zunächst solche Proben herausgegriffen, welche anhand ihrer Werte von den restlichen Proben des jeweiligen Kollektivs abwichen und somit als potenziell auffällig beurteilt wurden. Abb. 4.40 zeigt, dass die Mehrzahl der Proben in einem $\delta^{13}\text{C}$ -Wertebereich von -16,2 bis -14,8 ‰ angesiedelt war und sich



eine Individuen mehr oder weniger deutlich davon absetzten.

Abb. 4.40 Darstellung der Verhältnisse der stabilen Kohlenstoff- und Sauerstoffisotope aus dem strukturellen Knochenkarbonat in den Proben des Westfriedhofs.

4. ERGEBNISSE

Auch hinsichtlich des Verhältnisses der stabilen Sauerstoffisotope zeigten zwei Proben mit Werten von -12,6 ‰ bzw. -6,3 ‰ Abweichungen im Vergleich zu denen der restlichen Individuen des Kollektivs (-11,53 ‰ bis -7,58 ‰). Die so bestimmten isotopisch auffälligen Proben sind in einer Übersicht in Tabelle 4.8 aufgelistet.

Tabelle 4.8 Übersicht über die hinsichtlich der Isotopie des strukturellen Knochencarbonats von der Mehrzahl der Proben des Kollektivs Westfriedhof abweichenden Individuen nach grafischer Auswertung der Daten (vgl. Abb. 4.40).

auffällig $\delta^{13}\text{C}$	auffällig $\delta^{18}\text{O}$	auffällig $\delta^{13}\text{C}$ (abger.) und $\delta^{18}\text{O}$ (anger.)
WF 8b (-14,3 ‰)	WF 15 (-12,6 ‰)	WF 10 (-16,3 ‰, -7,0 ‰)
WF 41 (-14,3 ‰)	WF 24 (-6,3 ‰)	WF 44 (-16,3 ‰, -7,4 ‰)
WF 45 (-14,2 ‰)		WF 14b (-16,3 ‰, -6,7 ‰)
WF 47 (-14,4 ‰)		
WF 11 (-16,6 ‰)		
WF 21a (-16,4 ‰)		
WF 26 (-16,7 ‰)		

Bei den Proben des archäologischen Probenkollektivs war keine so deutliche Clusterbildung hinsichtlich der stabilen Kohlenstoff- und Sauerstoffisotope des Carbonats erkennbar wie bei den Proben des Westfriedhofs, abweichende Werte waren so nur schwer auszumachen.

Aufgrund der geographischen Unterschiede der Fundorte war es sinnvoller, diese untereinander zu vergleichen, um so Schwankungen in den Isotopendaten identifizieren zu können. Tabelle 4.9 fasst diejenigen Proben zusammen, welche im Vergleich zu den übrigen desselben Fundorts in ihren $\delta^{13}\text{C}$ - und/oder $\delta^{18}\text{O}$ -Werten Abweichungen von mehr als 1 ‰ aufwiesen und damit potenzielle diagenetische Veränderungen des Knochenminerals anzeigen könnten.

Die niedrigsten $\delta^{13}\text{C}$ -Werte wurden generell in den Fundorten Altdorf, Sulzbach und Kempten beobachtet (Minimum -15,2 ‰, Alt 240), die höchsten in den Proben aus Burgweinting, Maisach und Freiham (Maximum -11,73 ‰, MWL 137). Bei den $\delta^{18}\text{O}$ -Werten zeigten die Fundorte Kempten, Maisach und Freiham die niedrigsten Signaturen (Minimum -10,77 ‰, KE 161), die höchsten Werte wurden, mit jeweils zwei Ausnahmen, in den Fundorten Altdorf und Bruchsal beobachtet (Maximum -5,26 ‰, Alt 1).

Dies deckt sich prinzipiell mit der Anordnung der Fundorte nach ihrer orographischen Höhe, wonach die höheren Lagen eine Abreicherung des schweren Sauerstoffisotops zeigen (vgl. 1.4.2 und Abb. 4.41).

Tabelle 4.9 Anhand ihrer Isotopenverhältnisse auffällige Proben innerhalb der archäologischen Fundorte.

auffällig $\delta^{13}\text{C}$	auffällig $\delta^{18}\text{O}$
Alt 240 (-15,2 ‰)	Alt 64 (-7,7 ‰)
MWL 408 (-15,1 ‰)	Alt 93 (-7,6 ‰)
MWL 137 (-11,7 ‰)	MP 68 (-9,0 ‰)
BrA 12 (-14,3 ‰)	SB 626 (-6,9 ‰)
	BW 3 (-8,4 ‰)
	MWL 193 (-7,4 ‰)
	BrA 11 (-8,2 ‰)
	BrA 12 (-8,0 ‰)

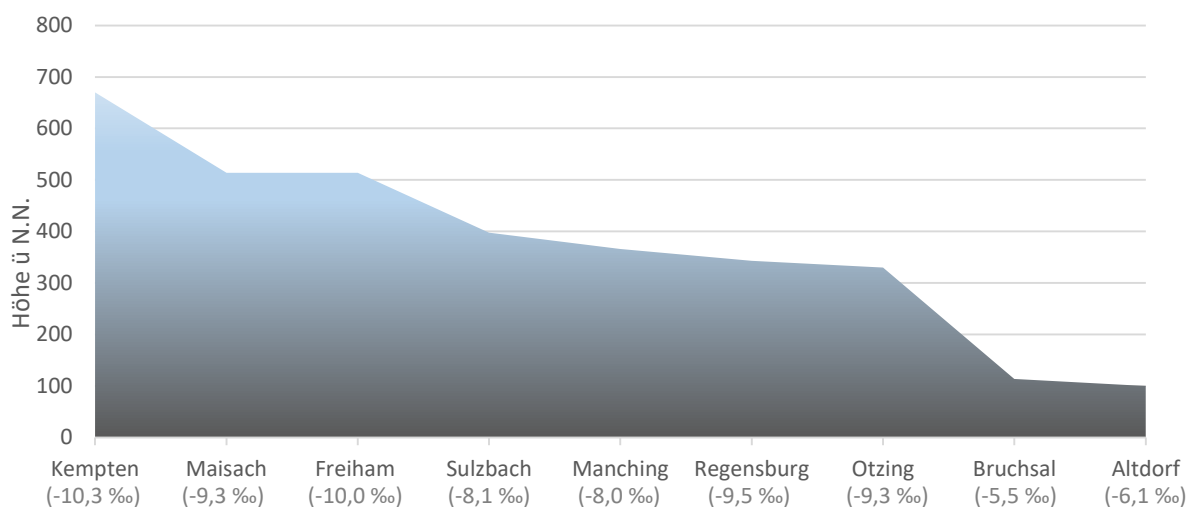
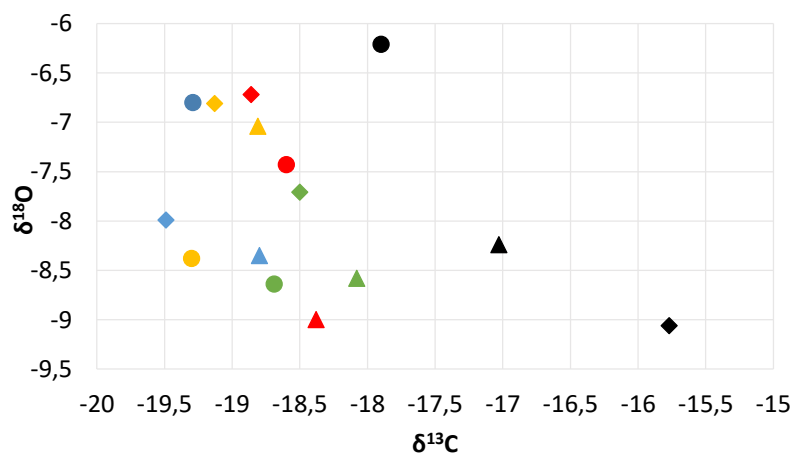


Abb. 4.41 Höhenprofil der archäologischen Fundorte. Die Knochen der am höchsten gelegenen Orte zeigten generell die niedrigsten $\delta^{18}\text{O}$ -Werte, die Proben aus dem Flachland die höchsten. Abweichende Werte innerhalb der Fundorte können auf Migrationsereignisse hindeuten, jedoch können sie auch eine Konsequenz diagenetischer Veränderungen sein. Die Zahlen in Klammern repräsentieren die Probenmittelwerte ohne Ausreißer.

Tierische Vergleichsknochen

Bei den unbestatteten Rehknochen konnten Veränderungen der Isotopenwerte des strukturellen Knochencarbonats dank der frischen Referenzknochen über die Depositionszeit direkt verfolgt werden.

Es zeigte sich, dass die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte generell nur geringe Schwankungen aufwiesen und über den gesamten Versuchszeitraum um einen Wert von $-18,8 \text{ ‰}$ relativ konstant blieben ($2\sigma = 0,24 \text{ ‰}$). Die einzige Ausnahme bildete Reh 3, bei welchem eine kontinuierliche Zunahme des $\delta^{13}\text{C}$ -Werts nach der Auslegung des Kadavers beobachtet werden konnte. Die Änderungen waren deutlich und beliefen sich insgesamt auf etwa $+2 \text{ ‰}$ (vgl. Abb. 4.42).



- | | | |
|----------------|------------------|-------------------|
| ● Reh 1 frisch | ◆ Reh 1, 72 Tage | ▲ Reh 1, 178 Tage |
| ● Reh 3 frisch | ◆ Reh 3, 72 Tage | ▲ Reh 3, 178 Tage |
| ● Reh 5 frisch | ◆ Reh 5, 72 Tage | ▲ Reh 5, 178 Tage |
| ● Reh 7 frisch | ◆ Reh 7, 51 Tage | ▲ Reh 7, 157 Tage |
| ● Reh 9 frisch | ◆ Reh 9, 51 Tage | ▲ Reh 9, 157 Tage |

Abb. 4.42 Übersicht über die aus dem Knochencarbonat der unbestatteten Rehknochen gewonnenen Verhältnisse der stabilen Isotope von Kohlenstoff und Stickstoff. Besonders die $\delta^{18}\text{O}$ -Werte veränderten sich über die Depositionszeit zum Teil erheblich.

Die Verhältnisse der stabilen Sauerstoffisotope zeigten eine weitaus höhere Variabilität, wobei sich kein einheitlicher Trend bei allen untersuchten Individuen ausmachen ließ. Während die Proben von Reh 1 und 3 eine kontinuierliche Abreicherung des schweren Sauerstoffisotops zeigten (insgesamt 1,6 ‰ bei Reh 1, fast 3 ‰ bei Reh 3), konnte bei Reh 5 erst im letzten Beprobungsintervall eine deutliche Abreicherung beobachtet werden (insgesamt 1,6 ‰).

Die Proben von Reh 7 wiesen weder in Bezug auf die $\delta^{13}\text{C}$ - noch die $\delta^{18}\text{O}$ -Werte nennenswerte Änderungen auf, Reh 9 zeigte einen kontinuierlichen Anstieg des $\delta^{18}\text{O}$ -Wertes um insgesamt 1,4 ‰.

4.1.4.3 Spektroskopische Untersuchungen des Knochens

Alle Proben des chemischen Degradationsexperiments ($n = 36$), der bakteriellen Animpfungsversuche ($n = 18$) sowie die bodengelagerten Knochen ($n = 85$) wurden mittels Infrarotspektroskopie in unbehandeltem, nativem Zustand untersucht. Zudem wurden alle Proben des Kollektivs Westfriedhof ($n = 50$), 30 der archäologischen Knochen sowie 16 der experimentell bakteriell degradierten Knochen zusätzlich in deproteiniert Form (vgl. 3.7) gemessen. Von den Knochen der unbestatteten Rehe stand lediglich ein Spektrum zur Auswertung zur Verfügung (Reh 5, frisch), welcher einen aus dem Spektrum errechneten Kristallinitätsindex von 2,6 bei einer Kristallitgröße von 37 nm aufwies. Das C/P-Verhältnis betrug 0,69.

Mit Ausnahme der unbestatteten Rehknochen wurden alle übrigen Stichprobenkollektive mittels Raman-Spektroskopie untersucht. Lediglich im Fall der archäologischen Knochen konnten 5 der insgesamt 35 Proben nicht gemessen werden (MP 54, BW 14, MWL 137, MWL 251 und MWL 408).

Experimentelle chemische Degradation

Die Untersuchung der experimentell thermisch-hydrolytisch degradierten frischen humanen Femora mittels FTIR-Spektroskopie machte deutlich, dass nicht nur die organische Komponente des Knochens von Veränderungen während der Inkubationszeit betroffen war, auch das Knochenmineral zeigte deutliche Alterationen. So nahmen die errechnete Kristallinität und damit auch die Kristallgröße der Knochenkristallite von Versuchsbeginn an ($\bar{x} = 2,3$) bis zum 6. Kochtag ab ($\bar{x} = 2,1$), während das C/P-Verhältnis anstieg (von $\bar{x} = 0,79$ auf 0,90). Danach stiegen Kristallinität und Kristallgröße erneut kurzzeitig an, bevor sie am 10. Inkubationstag wieder abnahmen. Erst am 16. Beprobungstag war schließlich ein kontinuierlicher Anstieg der beiden Parameter zu beobachten (bis CI = 2,7 bzw. einer Kristallgröße von 43 nm). Der C/P-Wert verhielt sich stets gegenläufig zum Kristallinitätsindex und erreichte am 20. Versuchstag mit 0,51 seinen Tiefstand. Am Ende des Experiments wurde ein durchschnittlicher Wert von 0,60 errechnet. Abb. 4.43 fasst den Verlauf von Kristallinität, Kristallgröße und dem C/P-Verhältnis über den Versuchszeitraum in einer Grafik zusammen.

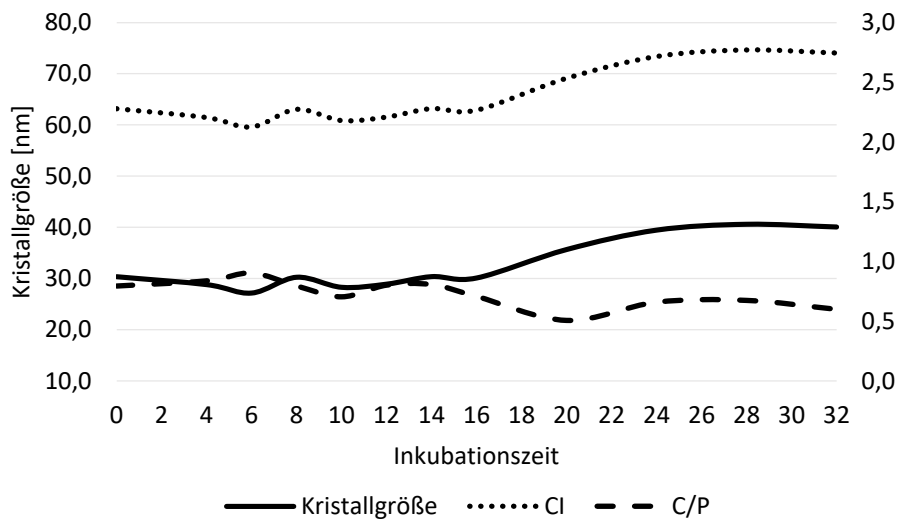
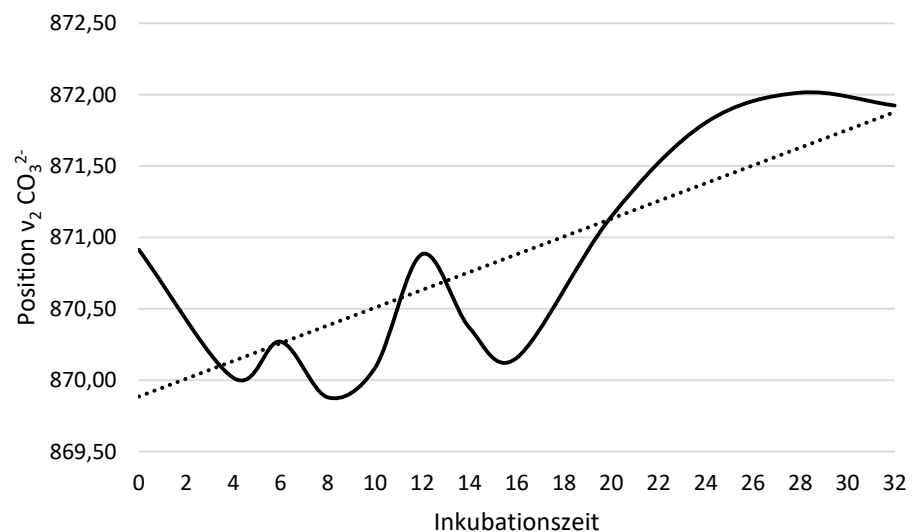


Abb. 4.43 FTIR: Darstellung der gemessenen Parameter zur Darstellung der mineralischen Integrität (CI = Kristallinitätsindex, C/P = Carbonat/Phosphat-Verhältnis), gemittelt über die Inkubationszeit.

Es fielen jedoch noch weitere Besonderheiten an den FTIR-Spektren auf. Die Position der $\nu_2\text{CO}_3^{2-}$ -Bande, welche sowohl die Typ A- als auch B-Carbonat-Umgebung des Kristalls repräsentiert, verschob sich ab dem 20. Inkubationstag in höhere Wellenzahlenbereiche um 872 cm^{-1} , während die Bandenposition in den frischen Knochen und nach den kürzeren Beprobungsintervallen durchgehend in niedrigeren Wellenzahlenbereichen angesiedelt war (um 871 cm^{-1} oder niedriger, siehe Abb. 4.44).

Abb. 4.44 Position der $\nu_2\text{CO}_3^{2-}$ -Bande in den Knochen der experimentellen chemischen Degradation über die Inkubationszeit. Ab dem 20. Inkubationstag ist die Bande in höhere Wellenzahlenbereiche verschoben.



Weiterhin fiel auf, dass ab dem 20. (Femur 1) bzw. 24. (Femur 2 und 3) Inkubationstag ein zusätzlicher Peak im Wellenzahlenbereich von etwa 3600 cm^{-1} sichtbar wurde, welcher auf die Präsenz von OH^- zurückgeführt werden kann (Abb. 4.45).

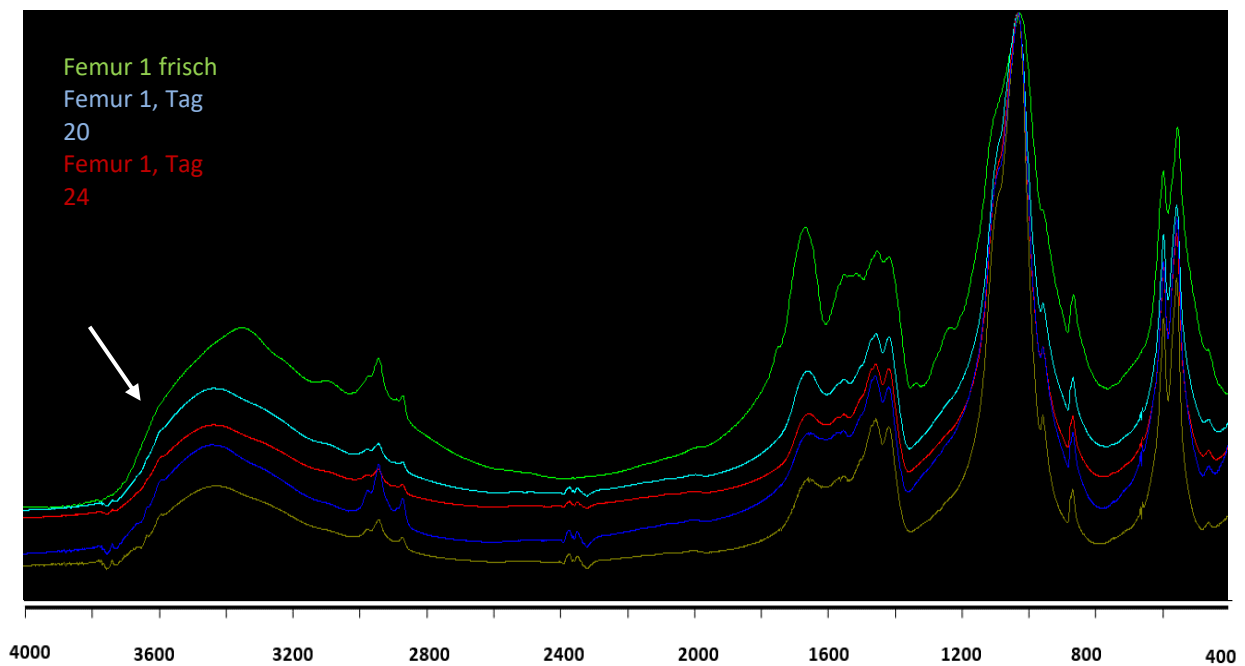


Abb. 4.45 FTIR-Spektren der Proben Femur 1, frisch, Tag 20, Tag 24, Tag 28 und Tag 32 (von oben nach unten). Neben der Reduktion der Amid-Banden, welche die Präsenz von Organik anzeigen, ist ab dem 20. Inkubationstag ein zusätzlicher Peak im Wellenzahlenbereich um 3600 cm⁻¹ erkennbar (Pfeil).

Bei der vergleichenden Betrachtung der über die Inkubationszeit der Knochenproben gemessenen Raman-Spektren fiel außer der rapiden Reduktion der für organische Moleküle typischen Banden ab dem 20. Inkubationstag keine unmittelbar greifbare Änderung der mineralischen Parameter auf. Die Position der $\nu_1\text{PO}_4^{3-}$ -Bande zeigte sich durchgehend konstant bei 960-961 cm⁻¹. Lediglich die errechnete Halbwertsbreite der Hauptphosphatbande wies durchschnittlich eine tendenzielle Reduktion über die Inkubationszeit von anfangs 17 auf 15 auf. Besonders deutlich zeigte sich dies ab dem 20. Inkubationstag und korrespondiert damit mit dem beobachteten Verlust der organischen Knochenbestandteile (vgl. Abb. 4.46).

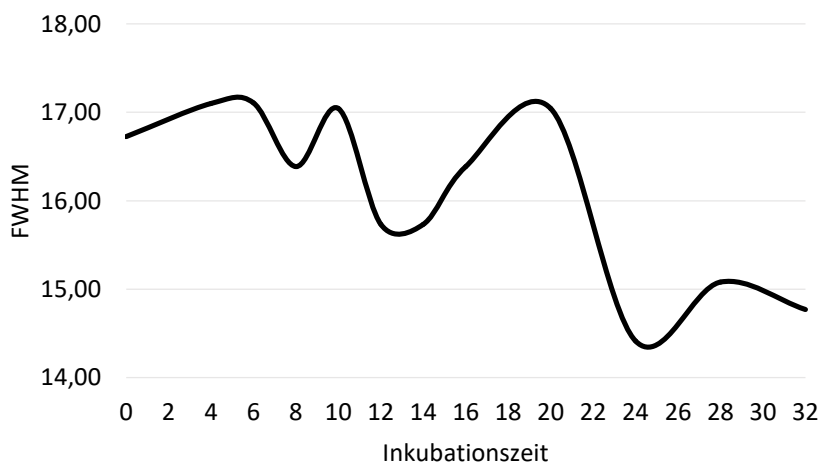


Abb. 4.46 Verlauf der aus den Raman-Spektren errechneten Halbwertsbreite (FWHM) der $\nu_1\text{PO}_4^{3-}$ -Bande über die Inkubationszeit (gemittelte Werte). Ab dem 20. Inkubationstag war ein steiler Abfall zu beobachten.

Experimentelle bakterielle Degradation

Bei den experimentell bakteriell degradierten Proben konnte lediglich bei der Hälfte der nativen Proben ein auswertbares FTIR-Spektrum gewonnen werden. Bei den restlichen Proben stellte sich die Messung als schwierig dar, und trotz teilweise mehrfacher Nachmessung konnten keine verwertbaren Spektren generiert werden, da das knochentypische Signal überlagert zu sein schien. So konnte beispielsweise kein einziges Spektrum der mit *P. fluorescens* bzw. *S. griseus* beimpften Knochen sinnvoll analysiert werden. Bereits bei der Probenvorbereitung zeigten sich diese Proben als auffällig, da die hergestellten Presslinge trotz mehrfachen Neuansatzes eine Art schmierigen Schleier aufwiesen.

Die Berechnung der mineralischen Indizes wurde daher aus Gründen der besseren Vergleichbarkeit innerhalb des Probenkollektivs an den deproteinierten Proben durchgeführt, welche deutlich besser messbar waren, um so eventuelle Abweichungen sichtbar zu machen.

Es zeigte sich, dass einige Proben hinsichtlich ihrer Kristallinität und Kristallitgröße teilweise deutliche Zunahmen im Vergleich zu den frischen Referenzknochen zeigten. Besonders prägnant war dies bei den mit dem Anaerobier *P. melaninogenica* beimpften Knochen sowie der unter anaeroben Bedingungen inkubierten Kontrolle von Femur 3 zu beobachten (siehe Tabelle 4.10). In den meisten Fällen war das Ansteigen der Kristallinität mit einer deutlichen Abnahme des C/P-Verhältnisses verbunden, was ein Hinweis auf den Verlust von Carbonat aus dem Knochen sein kann. Dies traf für die Proben Femur 2, *S. griseus*, Femur 2, *P. melaninogenica*, Femur 3, *P. fluorescens*, Femur 3, Kontrolle anaerob sowie Femur 3, *P. melaninogenica* zu. Teilweise zeigte jedoch das C/P-Verhältnis einen signifikanten Anstieg, ohne dass die Kristallinität dramatische Änderungen zeigte. Dies könnte eine Indikation für den Verlust von Phosphat aus dem Knochen sein. Besonders deutlich war dies bei den Proben Femur 1, *P. melaninogenica*, Femur 2, Kontrolle aerob und anaerob sowie allen mit *C. histolyticum* beimpften Knochen und betraf somit nahezu ausschließlich unter anaeroben Bedingungen inkubierte Proben.

Die Tatsache, dass auch die unbeimpften Kontrollen teilweise von Alterationen betroffen waren, macht deutlich, dass vermutlich auch in diesem Fall der kontaminierende Schimmel Auswirkungen auf die Knochenintegrität gehabt haben muss.

Tabelle 4.10 Übersicht über die aus den FTIR-Spektren der deproteinierten Proben des bakteriellen Degradationsexperiments errechneten Mineralisationsindizes. NK = Negativkontrolle.

	Femur 1			Femur 2			Femur 3		
	CI	Kristallgr.	C/P	CI	Kristallgr.	C/P	CI	Kristallgr.	C/P
Knochen frisch	2,4	32	0,76	2,3	32	0,79	2,2	29	0,83
NK aerob	2,3	31	0,72	2,2	28	0,94	2,4	33	0,73
<i>P. fluorescens</i>	2,4	33	0,78	2,3	30	0,86	2,4	32	0,67
<i>S. griseus</i>	2,3	31	0,69	2,5	35	0,69	2,3	32	0,80
NK anaerob	2,4	32	0,69	2,2	28	0,94	3,0	45	0,46
<i>P. melaninogenica</i>	2,5	34	0,99	2,7	39	0,66	2,7	38	0,66
<i>C. histolyticum</i>	2,3	31	0,96	2,4	33	0,94	2,3	31	0,97

4. ERGEBNISSE

Im Zuge der Auswertung der jeweiligen Position der ν_2 -Carbonatbande (siehe Tabelle 4.11) fiel auf, dass alle mit den anaeroben Keimen *P. melaninogenica* und *C. histolyticum* beimpften Knochen, ebenso wie die unter aeroben Bedingungen inkubierte Kontrolle von Femur 2 und die mit *S. griseus* inokulierte Probe von Femur 1 eine Verschiebung der Bande in höhere Wellenzahlenbereiche aufwiesen und damit auch mit den starken Erhöhungen bzw. Erniedrigungen des C/P-Verhältnisses korrelierten.

Tabelle 4.11 Übersicht über die Position der $\nu_2\text{CO}_3^{2-}$ -Bande in den FTIR-Spektren der mit Bakterien beimpften Knochenproben. NK = Negativkontrolle.

	Position $\nu_2\text{CO}_3^{2-}$ [cm^{-1}]		
	Femur 1	Femur 2	Femur 3
Knochen frisch	870,21	871,03	868,93
NK aerob	871,82	872,17	871,87
<i>P. fluorescens</i>	871,90	871,51	871,79
<i>S. griseus</i>	872,20	871,83	871,65
NK anaerob	871,31	871,69	871,8
<i>P. melaninogenica</i>	872,06	872,23	872,24
<i>C. histolyticum</i>	872,58	871,93	872,06

Ein zusätzlicher OH-Peak im Bereich von 3600 cm^{-1} konnte zudem in den Spektren der Proben Femur 1, *S. griseus*, Femur 2, Kontrolle (aerob) und Femur 1, *C. histolyticum* nachgewiesen werden.

Bei der Auswertung der Raman-Spektren der Knochen des bakteriellen Degradationsversuchs fiel auf, dass die ν_1 -Hauptphosphatbande bei etwa 963 cm^{-1} im Fall von 3 Proben deutlich blauverschoben (940 cm^{-1}) war (Femur 1, Kontrolle aerob; Femur 1, *P. fluorescens*; Femur 2, *S. griseus*). Die Tatsache, dass die Verschiebung des Peaks auch bei einer der Kontrollen beobachtet wurde, lässt vermuten, dass ein Zusammenhang mit dem kontaminierenden Befall von Schimmel besteht. Sechs andere Proben fielen durch eine im Vergleich zu den frischen Knochen sowie den restlichen Proben des Experiments erhöhte Halbwertsbreite der $\nu_1\text{PO}_4^{3-}$ -Bande auf.

Mit einem Wert von jeweils 18,6 überschritten die Proben Femur 3, NK aerob, Femur 3, *P. fluorescens*, Femur 1, *S. griseus*, Femur 3, *S. griseus*, Femur 1, NK anaerob sowie Femur 2 und 3, *P. melaninogenica* auch den von Thomas et al. (2007) vorgegebenen oberen Grenzwert von 17 für unverändertes Knochenmineral (vgl. 1.5.2), was eine Abnahme der Kristallinität suggeriert (Freeman et al. 2001). Da hiervon sowohl unter aeroben als auch anaeroben Bedingungen inkubierte Proben sowie unbeimpfte Kontrollen betroffen waren, lässt sich der Effekt der Zunahme der Halbwertsbreite keinem bestimmten Mikroorganismus zuordnen.

Bodengelagerte Proben

Die aus den FTIR-Spektren errechneten Kristallinitätswerte der Proben des Kollektivs Westfriedhof waren relativ eng gefasst und bewegten sich zwischen 2,3 und 2,6, wobei der gemittelte

Wert bei 2,4 lag. Lediglich drei Proben wiesen den oberen Grenzwert von 2,6 auf. Die archäologischen Proben zeigten mit Werten zwischen 2,2 und 2,9 insgesamt eine etwas größere Spanne, wobei auch hier lediglich vier Proben einen Wert von 2,9 erreichten (MP 54, BW 14, MWL 137, KE 192). Der Median lag mit 2,6 etwas höher als der des Westfriedhofs. Keine der Proben überschritt damit den in der Literatur als obere Grenze angegebenen Wert von 2,9 für unveränderten Knochen (siehe 1.5.2), jedoch unterschritten mehr als die Hälfte der Knochen mit kurzen Liegezeiten ($n = 27$) sowie acht der archäologischen Proben den unteren Grenzwert von 2,5.

Die aus den FTIR-Spektren berechnete Kristallitgröße war daraufhin sogar bei 33 von 50 Proben des Westfriedhofs kleiner als die angegebene Untergrenze von 35 nm (1.5.2, Median 34 nm, Minimum 31 nm, Maximum 37 nm), wiederum in Entsprechung zu den frischen Referenzproben. In den archäologischen Proben war die beobachtete Wertespanne wiederum weiter gefasst. So konnte in 13 von 35 Fällen eine Vergrößerung der Kristalle auf über 40 nm festgestellt werden, zwei Proben wiesen geringere Kristallgrößen als 30 nm auf (Median 37 nm, Minimum 29 nm, Maximum 43 nm).

Hinsichtlich des errechneten C/P-Verhältnisses zeigten die Proben des Kollektivs Westfriedhof bis auf wenige Ausnahmen eine recht eng gefasste Wertespanne, welche Werte zwischen 0,70 und 0,80 umfasste (Median 0,76). In fünf Fällen überstieg der C/P-Wert 0,80, in einer Probe erheblich (WF 43, C/P = 1,05). Mit Ausnahme von Probe WF 26 konnten in den FTIR-Spektren der übrigen Knochen mit einem C/P-Wert $> 0,80$ jeweils deutliche Signaturen einer Fremdsubstanz nachgewiesen werden, bei welcher es sich vermutlich um Fettsäuren handeln dürfte (vgl. Abb. 4.47).

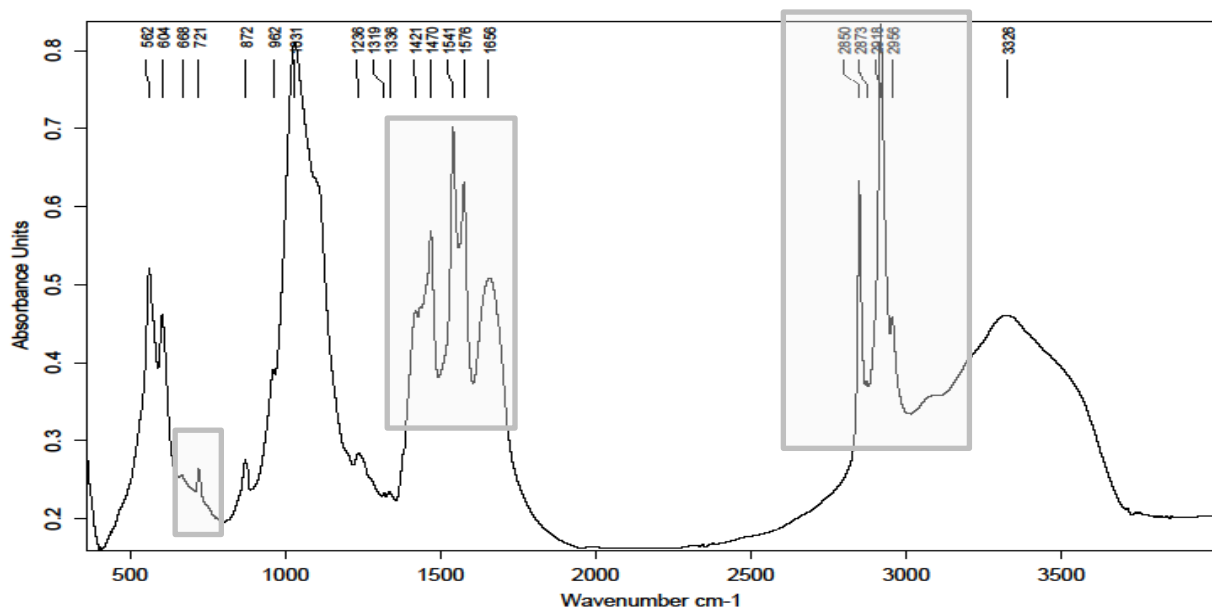


Abb. 4.47 FTIR-Spektrum Probe WF 43 mit charakteristischen Banden für detektierte Fette.

4. ERGEBNISSE

Im schwersten Fall (WF 43) konnten diese auch im Zuge der Deproteinierung des Knochenpulvers nicht vollständig entfernt werden. Zwei Proben (WF 21a, WF 45) wichen mit einem Wert von jeweils 0,67 nach unten ab.

Auch hier variierten die Werte der archäologischen Proben wiederum stärker (Median 0,73, Minimum 0,57, Maximum 1,02). Zehn Proben zeigten Werte über 0,80, sechs davon sogar über 0,90. Elf Proben wiesen niedrigere Werte als 0,70 auf. Mit Ausnahme einer Probe (BrA 3) konnte in allen archäologischen Knochen mit erhöhten C/P-Werten ($> 0,90$, BrA 7, BrA 10, BrA 11, BrA 12, MWL 251) im FTIR-Spektrum ein Calcit-typischer Peak bei ca. 710 cm^{-1} detektiert werden (siehe Abb. 4.48).

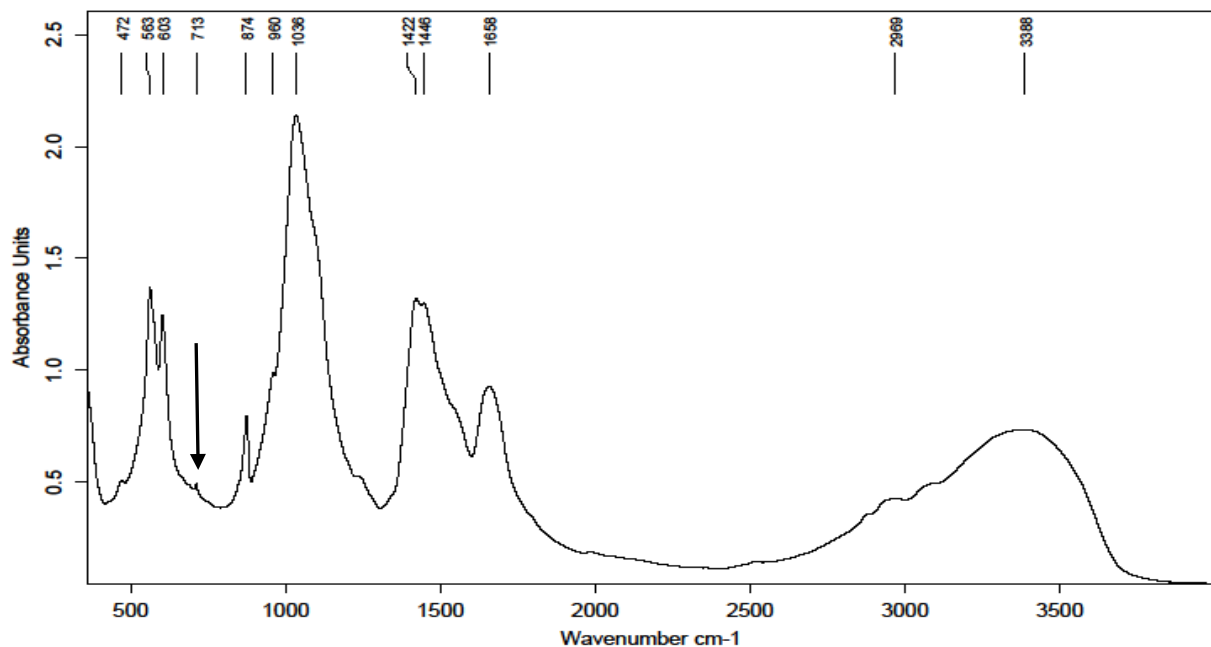


Abb. 4.48 FTIR-Spektrum der archäologischen Probe MWL 251 mit dem für Calcit charakteristischen Peak bei 713 cm^{-1} (Pfeil).

BrA 3 wies zwar kein Calcitsignal auf, jedoch zeigte das Spektrum akzessorische Banden bei 1670 cm^{-1} , 2300 cm^{-1} , 2850 cm^{-1} sowie 2920 cm^{-1} , welche auf die Kontamination mit einem anderen carbonathaltigen Mineral hindeuten (Abb. 4.49).

In den Spektren des jeweiligen deproteinierten Knochenpulvers, welches für die massenspektrometrische Analyse der stabilen Isotope des Knochenminerals verwendet wird, waren jedoch in keinem der Fälle noch Fremdmineralphasen detektierbar (siehe Abb. 4.49).

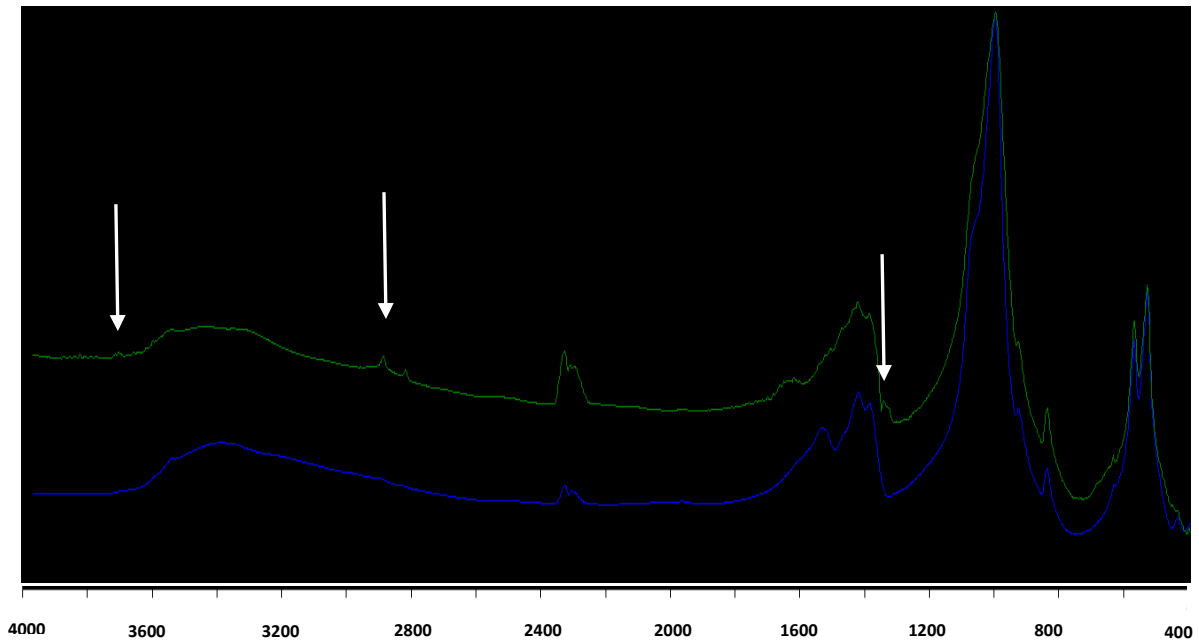


Abb. 4.49 FTIR-Spektrum der archäologischen Probe BrA 3. Grün = unbehandelter Knochen, blau = nach Deproteinierung und Ca-Acetat-Essigsäurepufferbehandlung. Die nicht-knochentypischen Banden des nativen Spektrums (Pfeile) wurden durch die Behandlung entfernt. Der Ursprung der Bande bei ca. 2300 cm^{-1} ist unklar und kann eventuell auf ein Messartefakt zurückgeführt werden.

Jedoch war nach der Deproteinierung und Entfernung kontaminierender Mineralphasen eine zum Teil erhebliche Änderung der mineralischen Indizes erkennbar, welche im Fall von BrA 3 besonders deutlich sichtbar wurde. So stieg hier die Kristallinität von 2,2 auf 2,9 an, was einer Vergrößerung der Knochenkristallite von 30 auf 43 nm entsprach. Das C/P-Verhältnis sank von 0,99 auf 0,71 und deutet damit einen relativen Verlust von Carbonationen aus dem Mineral an. In allen deutlich kontaminierten Proben konnte der C/P-Wert nach der Behandlung in einen Bereich zwischen 0,70 und 0,84 abgesenkt werden, lediglich für BrA 10 wurde ein Anstieg von 0,90 auf 1,10 verzeichnet. Die Änderungen in der Kristallinität der Proben waren eher gering und zeigten keinen einheitlichen Trend.

Bei 10 der archäologischen Proben fiel weiterhin im Zuge der Auswertung der FTIR-Spektren eine zusätzliche OH-Bande im Wellenzahlbereich von etwa 3600 cm^{-1} auf, welche bereits bei den experimentell chemisch degradierten Proben in den späten Inkubationsphasen beobachtet wurde (Abb. 4.50, siehe auch Abb. 4.45, S.138). Keine der forensischen und bakteriell degradierten Proben zeigte diesen Peak.

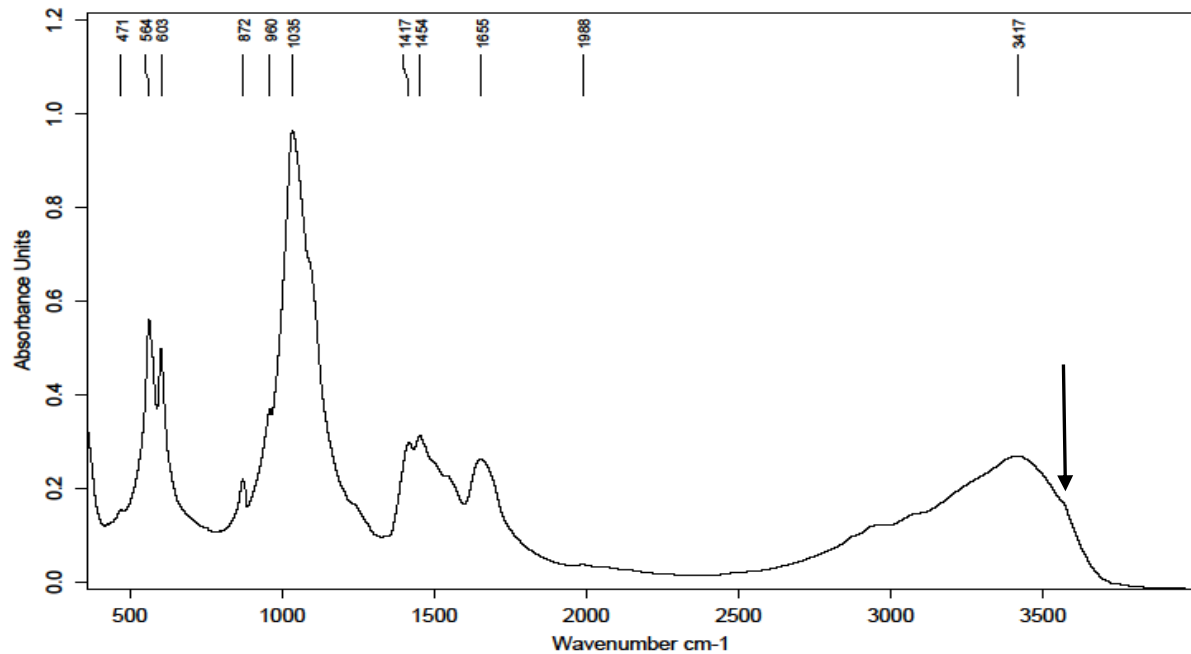


Abb. 4.50 FTIR-Spektrum der unbehandelten archäologischen Probe KE 192. Im Wellenzahlenbereich von etwa 3600 cm^{-1} ist eine zusätzliche schwache, in frischem Knochen nicht beobachtbare OH-Bande erkennbar (Pfeil).

In Bezug auf ihre gemessenen Raman-Spektren zeigten sich die bodengelagerten Proben im Vergleich relativ homogen. Lediglich die archäologischen Proben BW 3 und MG 1087 hoben sich bei der Analyse der Spektren durch die Detektion von zusätzlichen Banden bei ca. 350 cm^{-1} , 650 cm^{-1} (nur bei MG 1087), 720 cm^{-1} sowie 877 cm^{-1} von den restlichen Proben ab (vgl. Abb. 4.51). Zudem zeigten die Proben einen ungewöhnlich hohen Fluoreszenzuntergrund. Dies weist auf die Kontamination mit Fremdmineralphasen hin, welche normalerweise nicht in Knochen zu finden sind. Das entsprechende Spektrum der Probe OTZ 1, welche bereits makroskopisch eine deutliche Grünfärbung zeigte und somit eine Kontamination des Gewebes mit Grünspan (Malachit) vermutet wurde, wies keine für dieses Mineral typischen Banden auf (Frost et al. 2002).

4. ERGEBNISSE

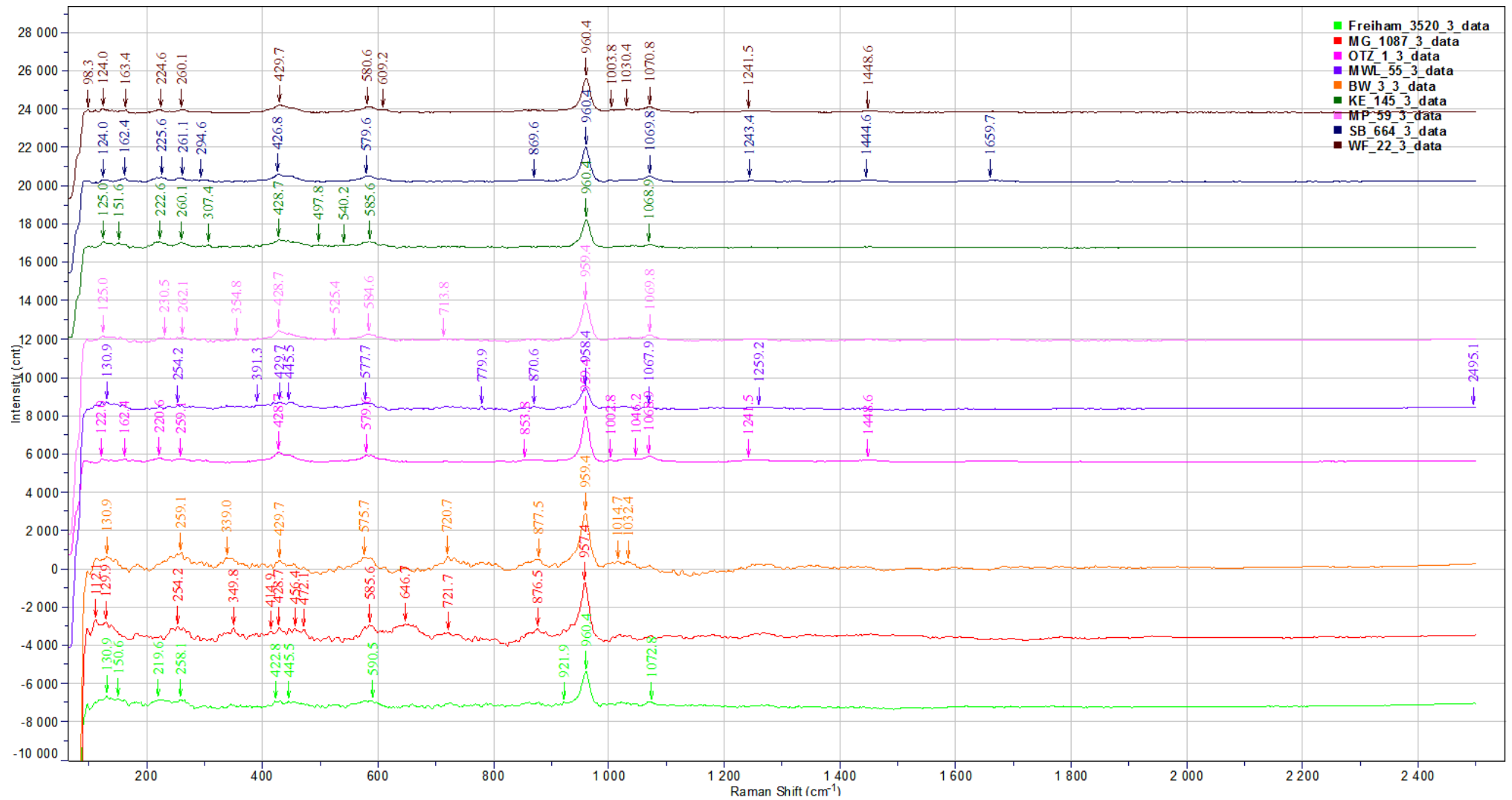


Abb. 4.51 Vergleichende Darstellung der Raman-Spektren exemplarisch ausgewählter Proben nach Bodenlagerung über unterschiedliche Liegezeiten (Frühbronzezeit: MG 1087, bis rezent: WF 22). Die Proben MG 1087 und BW 3 zeigen im Bereich zwischen 250 cm^{-1} und 900 cm^{-1} zusätzliche, in den anderen Proben nicht detektierte Banden, Grafik von Alexander Reul (unveröffentlicht).

4. ERGEBNISSE

Im Zuge der Analyse der Position der $\nu_1\text{PO}_4^{3-}$ -Dehnungsschwingung (Hauptphosphatbande) fiel auf, dass innerhalb der bodengelagerten Stichprobenkomplexe eine klare Aufspaltung anhand der Position des Peaks stattfand (siehe Abb. 4.52). Dabei waren die meisten Proben, deren Hauptphosphatpeak von der für Knochen typischen Position zwischen 958 cm^{-1} und 961 cm^{-1} abwich,

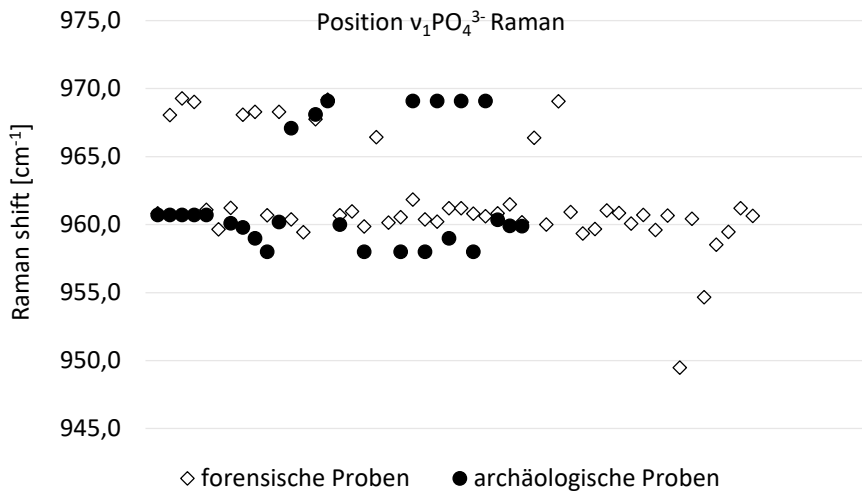


Abb. 4.52 Auftrennung der Proben anhand der Position der ν_1 -Hauptphosphatbande in den Raman-Spektren der bodengelagerten Proben. Zahlreiche Proben sowohl des forensischen als auch des archäologischen Kollektivs wichen deutlich von der für Knochen typischen Position der Bande zwischen 958 cm^{-1} und 961 cm^{-1} ab.

mit Positionen zwischen 966 cm^{-1} und 969 cm^{-1} deutlich rotverschoben.

Zwei Proben des Kollektivs Westfriedhof (WF 47, WF 49b) zeigten zudem eine deutliche Blauverschiebung des Peaks, wie sie auch bei drei Proben des bakteriellen Degradations-experiments beobachtet wurde (siehe weiter oben, S.140).

Die für die $\nu_1\text{PO}_4^{3-}$ -Bande errechnete Halbwertsbreite ergab für die archäologischen Proben eine insgesamt höhere Streuung als für die Knochen mit kurzen Liegezeiten ($2\sigma = 1,46$ bzw. $0,88$). Die Proben des Kollektivs Westfriedhof bewegten sich relativ konstant im Wertebereich zwischen $17,6$ und $18,0$. Lediglich 12 Proben wichen von dieser Spanne ab, wobei nur zwei Werte über 18 lagen (WF 1, WF 50; vgl. Abb. 4.53). Die restlichen zehn unterschritten den durchschnittlichen Wert, jedoch waren alle diese Proben innerhalb der von Thomas et al. (2007) gesetzten Spanne für guten Knochenerhalt. Im Fall der archäologischen Proben zeigten vier eine Halbwertsbreite des Phosphatpeaks, die unter 15 lag (Alt 1, MWL 55, KE 192, FH 3520), was auf eine erhöhte Kristallinität hindeutet. Zwei Proben wiesen eine Verbreiterung des Peaks auf und überschritten den

Grenzwert von 18 (BW 3, BW 12).

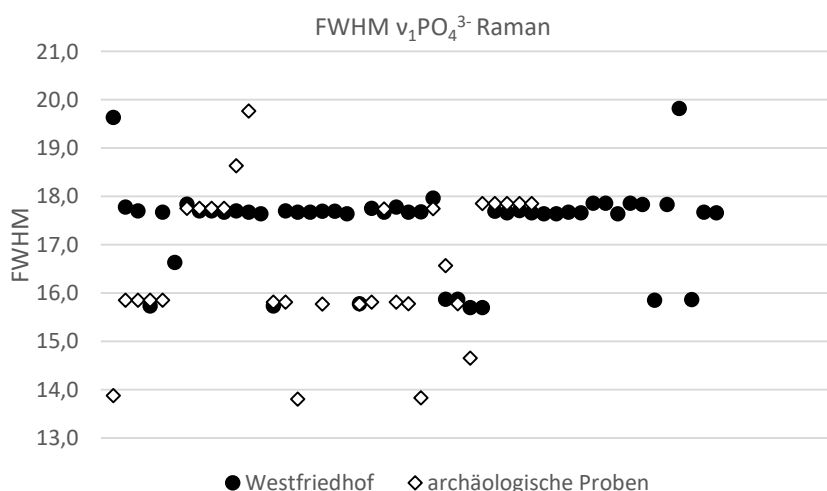


Abb. 4.53 Gemessene Halbwertsbreiten (FWHM) der Hauptphosphatbande. Die Streuung innerhalb der archäologischen Proben war größer als bei den Proben des Westfriedhofs.

Die Verschiebung der Hauptphosphatbande und deren

Halbwertsbreite zeigten jedoch keinen statistisch signifikanten Zusammenhang (nach Spearman).

4.2 Intra- und interstrukturelle Zusammenhänge der analysierten Diageneseparameter

4.2.1 Intrastrukturelle Zusammenhänge histologisch festgestellter Diageneseparameter

Tendenziell schien die Bildung authigener Kristalle vermehrt bei schlechtem mikrostrukturellem Erhalt aufzutreten (OHI = 0-2), jedoch konnten diese auch in allen anderen Klassen des histologischen Indexes beobachtet werden.

Die statistische Analyse ergab ebenso einen hoch signifikanten Zusammenhang zwischen dem histologischen Index, welcher das Ausmaß des bakteriellen Angriffs klassifiziert, sowie histologischen Auffälligkeiten wie Haltelinien, Auflagerungen und einer anomalen Mikrostruktur (Spearman $R = 0,276$, Kendall $T = 0,246$). Aufgrund der sehr niedrigen Korrelationskoeffizienten und der hohen Frequenz von periostalen Auflagerungen bei den Proben des Westfriedhofs, welche ausschließlich den OHI-Klassen 4 und 5 (guter bis sehr guter mikrostruktureller Erhalt) zugeordnet waren, wird der Zusammenhang jedoch eher als Scheinkorrelation eingeschätzt und nicht etwa als Folge eines verstärkten bakteriellen Abbaus von histopathologisch auffälligem Knochen.

4.2.2 Korrelation histologischer Parameter mit dem Erhaltungsgrad von Kollagen

4.2.2.1 Bakterielle Zerstörungsmuster

In Bezug auf das gesamte Probenkollektiv zeigte die im histologischen Bild sichtbare bakterielle Zerstörung (ausgedrückt durch den Oxford histologischen Index, OHI) statistisch hoch signifikante Korrelationen mit fast allen festgestellten Kollagenmerkmalen, lediglich die an der Aminosäurezusammensetzung festgemachte Qualität des Kollagens korrelierte nicht mit dem mikrostrukturellen Erhaltungszustand.

Den höchsten Korrelationskoeffizienten wies der Zusammenhang zwischen bakteriellen Zerstörungsmustern und prozentualem Stickstoffanteil des Kollagens auf, wobei Abweichungen von den als physiologische Spanne definierten Werten von % C und auch % N keiner bestimmten OHI-Gruppe zugeordnet werden konnten (nicht signifikant, χ^2 nach Pearson).

4. ERGEBNISSE

Während bei den experimentell bakteriell degradierten Proben und den Knochen des Westfriedhofs erhöhte % C- und % N-Werte vornehmlich in den Proben detektiert wurden, welche eine vollkommen intakte Mikrostruktur aufwiesen (OHI = 5), war bei den archäologischen Proben genau das Gegenteil der Fall. Hier fanden sich die hinsichtlich ihrer % C- und % N-Werte auffälligen Knochen bezüglich ihres mikrostrukturellen Erhaltungsgrads in den OHI-Klassen 0 bzw. 2 wieder. Jedoch handelte es sich hierbei um jeweils lediglich 2 Proben.

Prozentuale Kollagen-Gewichtsanteile von unter 1 % waren nur in der OHI-Klasse 0 zu finden (Mikrostruktur vollkommen zerstört), jedoch waren dies lediglich 3 Fälle von 126, was die statistische Aussagekraft relativiert.

Eine schlechte und sehr schlechte Kollagenqualität, reflektiert durch die Aminosäurezusammensetzung, waren besonders mit gutem mikrostrukturellem Erhalt korreliert.

Innerhalb der einzelnen Stichprobenkollektive stellten sich die Zusammenhänge unterschiedlich dar. Bei keinem der untersuchten Probensets konnte ein statistischer Zusammenhang zwischen histologischem Erhaltungszustand, molarem C/N-Quotienten und der Kollagenqualität hergestellt werden (vgl. Tabelle 4.12).

Im Hinblick auf die prozentualen Anteile von Kohlenstoff und Stickstoff wiesen lediglich die archäologischen Proben eine statistisch hoch signifikante Korrelation auf, ebenso mit recht hohen Korrelationskoeffizienten, wobei die Proben mit erhöhten Werten mit schlechterem mikrostrukturellen Erhalt in Verbindung gebracht werden konnten (siehe weiter oben). Jedoch war eine gute und sehr gute Kollagenqualität hinsichtlich der Integrität der Aminosäurezusammensetzung hier ebenfalls eher in den unteren OHI-Klassen vertreten, während eine mäßige bis schlechte Kollagenqualität tendenziell mit einer unversehrten Mikrostruktur korrelierte. Jedoch konnte dies statistisch nicht als signifikanter Zusammenhang bestätigt werden.

Tabelle 4.12 Korrelation des histologischen Erhaltungsgrades mit Merkmalen des Kollagens in den einzelnen untersuchten Probenkomplexen (obere Zeile: Spearman R; untere Zeile: Kendall T). Hoch signifikante Zusammenhänge sind mit „***“ markiert, signifikante Korrelationen mit „**“, n.s. = nicht signifikant. Bei den experimentell bakteriell degradierten Proben und den Rehknochen wurde die Kollagenqualität jeweils als sehr gut beurteilt und war damit konstant.

		Gew %	% C	% N	C/N-molar	Qualität (ASA)
OHI	Westfriedhof	-0,312* -0,257*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	archäol. Proben	0,747** 0,566**	0,533** 0,416**	0,634** 0,458**	n.s.	n.s.
	Bakt. Degradat.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-
	Rehknochen	-0,738** -0,617**	n.s.	n.s.	n.s.	-

4.2.2.2 Organische Kontaminationen

Für histologisch feststellbare organische Kontaminationen konnten nur bedingt Zusammenhänge mit der Integrität des extrahierten Knochenskollagens hergestellt werden. So zeigte zwar die statistische Analyse eine hoch signifikante Korrelation zwischen der Eindringtiefe von Huminstoffen in den Knochen sowie dem prozentualen Anteil von Kohlenstoff und Stickstoff in der extrahierten organischen Fraktion, jedoch waren die Korrelationskoeffizienten nicht sonderlich hoch (siehe Tabelle 4.13). Auffällig hohe % C- bzw. % N-Werte konnten nicht mit der Eindringtiefe der Huminstoffe assoziiert werden. Mit den übrigen festgestellten Kollagenparametern konnte kein statistischer Zusammenhang hergestellt werden.

Das Auftreten von Pilzsporen, Nematoden oder sonstigen organischen Kontaminationen, die bei den Proben des Kollektivs Westfriedhof nachweisbar waren, hatte keinen nachweisbaren Einfluss auf die festgestellten Parameter des Kollagenerhalts.

Tabelle 4.13 Korrelation der periostalen Eindringtiefe von Huminstoffen in das Knochengewebe mit den Merkmalen des Kollagens in Bezug auf die Gesamtstichprobe (obere Zeile: Spearman R; untere Zeile: Kendall T). Hoch signifikante Zusammenhänge sind mit „***“ markiert, signifikante Korrelationen mit „**“, n.s. = nicht signifikant.

	Gew %	% C	% N	C/N-molar	Qualität (ASA)
Eindringtiefe					
Huminstoffe	n.s.	0,343**	0,284**	n.s.	n.s.
		0,273**	0,223*		

4.2.2.3 Rekristallisierung und authigene Kristallformation

Tabelle 4.14 zeigt die errechnete Korrelation zwischen dem Auftreten von authigenen Kristallen innerhalb der Mikrostruktur der Knochen bzw. meist periostal lokalisierten Rekristallisationsmustern und den erhobenen Kollagencharakteristika für die beiden bodengelagerten Stichprobenkollektive (nach Spearman und Kendall).

Die statistische Analyse ergab einen hoch signifikanten Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Kristallen, dem prozentualen Kollagenanteil am Gesamtgewicht, den prozentualen Anteilen von Kohlenstoff und Stickstoff am Kollagen sowie dem molaren C/N-Verhältnis. Lediglich mit der Kollagenqualität war keine statistisch signifikante Korrelation erkennbar. Eine getrennte Analyse von Westfriedhof und archäologischem Material ergab jedoch keinerlei Anhaltspunkte für Korrelationen der getesteten Parameter.

Aufgrund dieses Widerspruchs und um die Stärke eines möglichen Effekts auf die Kollagenparameter zu untersuchen, wurde eine lineare Regressionsanalyse durchgeführt. Daraus ergab sich eine potenzielle Beeinflussung des prozentualen Kollagengewichts von 18,1 % durch den Faktor „Auftreten authigener Kristalle/ Rekristallisation“, was einer mittleren Effektstärke entspricht ($R^2 = 0,181$, $p = 0,000$).

4. ERGEBNISSE

Tabelle 4.14 Korrelation zwischen histologisch detektierten Fremdkristallen bzw. Rekristallisationsphänomenen und den erhobenen Kollagencharakteristika (obere Zeile: Spearman R; untere Zeile: Kendall T). Hoch signifikante Zusammenhänge sind mit „**“ markiert.

	Gew %	% C	% N	C/N-molar	Qualität (ASA)
Kristalle	-0,444**	-0,351**	-0,444**	0,339**	n.s.
	-0,364**	-0,288**	-0,365**	0,282**	

Die errechneten Auswirkungen auf die % C- sowie % N-Daten waren mit 8,6 % bzw. 15,8 % ($p = 0,000$) ebenfalls nicht sonderlich hoch. Die Korrelation zwischen dem Auftreten von Kristallen und der Kollagenqualität nach Aminosäureanalyse war zwar nach dem χ^2 -Test ebenfalls hoch signifikant ($p = 0,004$), jedoch war der Korrelationskoeffizient nur sehr gering.

4.2.2.4 Histopathologie

Die pathologische Resorption von Knochensubstanz zeigte nach entsprechender Analyse mittels χ^2 -Test, Rangkorrelationstest und linearer Regression keinerlei statistisch feststellbaren Zusammenhang mit den getesteten Kollagenparametern (prozentualer Gewichtsanteil, % C, % N, C/N-molar, Kollagenqualität).

Im Hinblick auf andere histologisch festgestellte Auffälligkeiten wie Haltelinien, Auflagerungen oder einen gestörten mikrostrukturellen Knochenaufbau zeigte sich zunächst ein statistisch signifikanter Zusammenhang mit den prozentualen Kohlenstoff- und Stickstoffanteilen des Kollagens, allerdings waren die Korrelationskoeffizienten äußerst gering (vgl. Tabelle 4.15).

Jedoch wiesen die im Vergleich zum „Normbereich“ erhöhten % C- bzw. % N-Werte keine statistische Korrelation mit histopathologischen Auffälligkeiten auf (χ^2 nach Pearson). Lediglich zwei der Proben des Westfriedhofs, bei welchen im histologischen Bild periostale Auflagerungen festgestellt wurden, zeigten auffällig erhöhte Werte für den prozentualen Anteil sowohl von Kohlenstoff als auch Stickstoff in ihrem Kollagen. Da aber mit einem Anteil von 20 % viele der Knochen des Kollektivs Westfriedhof periostale Auffälligkeiten zeigten, kann hier keine Tendenz festgestellt werden.

Tabelle 4.15 Korrelation zwischen dem Auftreten von Haltelinien, Auflagerungen, eines gestörten Knochenaufbaus und den erhobenen Kollagencharakteristika (obere Zeile: Spearman R; untere Zeile: Kendall T). Signifikante Zusammenhänge sind mit „*“ markiert.

	Gew %	% C	% N	C/N-molar	Qualität (ASA)
Histologische Auffälligkeiten	n.s.	0,246*	0,205*	n.s.	n.s.
		0,198*	0,162*		

4.2.3 Assoziationen zwischen histologischer Integrität und Alterationen der mineralischen Knochenfraktion

4.2.3.1 Bakterielle Bohrkanäle

Das Auftreten bakterieller Destruktionsfoci konnte statistisch mit diversen Mineralisierungsindizes aus den FTIR-Messungen korreliert werden (nach Spearman und Kendall, siehe Tabelle 4.16). Auch die lineare Regressionsanalyse ergab eine hoch signifikante Korrelation, wobei das Bestimmtheitsmaß eine mittlere Effektstärke für die Merkmale offenbarte ($R^2 = 0,173$ bzw. $0,191$). Der hoch signifikante Zusammenhang zwischen histologischem Index und dem Auftreten einer OH-Bande bei 3600 cm^{-1} im FTIR-Spektrum wurde durch den χ^2 -Test bestätigt, für welchen ein vergleichsweise hohes Zusammenhangsmaß errechnet wurde (Cramér's $V = 0,456$).

Es zeigte sich, dass die akzessorische Bande in allen OHI-Klassen beobachtet werden konnte, mit Ausnahme der durch die Kategorie 5 repräsentierten histologisch unversehrten Mikrostruktur. Bei einer Einteilung des Kristallinitätsindex in die Kategorien: $< 2,2$, $2,2-2,8$ und $> 2,8$ fiel auf, dass Werte über $2,8$ fast ausschließlich in den OHI-Klassen 0-2 (schlechter mikrostruktureller Erhalt) zu finden waren, während eine geringere Kristallinität als $2,2$ nur bei einer bakteriell vollkommen unversehrter Mikrostruktur (OHI = 5) vorkam.

Tabelle 4.16 Korrelation zwischen dem Auftreten bakterieller Zerstörungsmuster, ausgedrückt durch den histologischen Index, und den Mineralisationsindizes aus den FTIR- und Raman-Messungen (obere Zeile: Spearman R; untere Zeile: Kendall T). Hoch signifikante Zusammenhänge sind mit „**“ markiert, n.s. = nicht signifikant.

	CI	Kristallgröße	C/P	Pos. $\nu_2\text{CO}_3^{2-}$	OH-Bande	Pos. $\nu_1\text{-PO}_4^{3-}$ (Raman)	FWHM $\nu_1\text{PO}_4^{3-}$ (Raman)
OHI	-0,366**	-0,353**	n.s.	n.s.	-0,390**	n.s.	n.s.
	-0,312**	-0,278**			-0,361**		

Bei der Einteilung der Kristallitgröße in die Klassen „ $< 30\text{ nm}$ “, „ $30-39\text{ nm}$ “ und „ $> 39\text{ nm}$ “ zeigte sich, dass sowohl sehr große ($> 39\text{ nm}$) als auch sehr kleine Kristallite ($< 30\text{ nm}$) zwar in allen OHI-Klassen beobachtet werden konnten, jedoch war die Häufigkeit von Kristallen $> 39\text{ nm}$ bei sehr stark bakteriell angegriffener oder vollkommen zerstörter Mikrostruktur höher als bei besserem Strukturerhalt (Abb. 4.54).

Insgesamt korrelierte der histologische Index hoch signifikant mit dem prozentualen Gewichtsanteil der anorganischen Knochenfraktion (Spearman $R = -0,623$, Kendall $T = -0,501$, siehe Abb. 4.55).

4. ERGEBNISSE

Innerhalb der beiden histologisch und mineralogisch untersuchten bodengelagerten Stichprobensets konnten diese Zusammenhänge jedoch größtenteils nicht bestätigt werden.

Im Fall der archäologischen Proben wurde lediglich zwischen dem prozentualen Gewicht der anorganischen Knochenfraktion und dem histologischen Index eine hoch signifikante Korrelation nachgewiesen, welche anhand der hohen Korrelationskoeffizienten als recht stark beurteilt werden konnte (Spearman $R = -0,661$, Kendall $T = -0,533$).

Bei den Knochen des Westfriedhofs

dagegen bestand ein hoch signifikanter Zusammenhang zwischen dem histologischen Index und der Halbwertsbreite der $\nu_1\text{PO}_4^{3-}$ -Schwingung der Raman-Spektren (Spearman $R = -0,404$; Kendall $T = -0,363$), wobei hier ein OHI von 4 (beginnender bakterieller Angriff) mit einer Verbreiterung des Peaks einherging. Da im Probenkollektiv der archäologischen Knochen kein Fall mit vollkommen intakter Mikrostruktur repräsentiert war, ist an dieser Stelle der fehlende Korrelationsnachweis bei den archäologischen Proben aber nicht direkt vergleichbar.

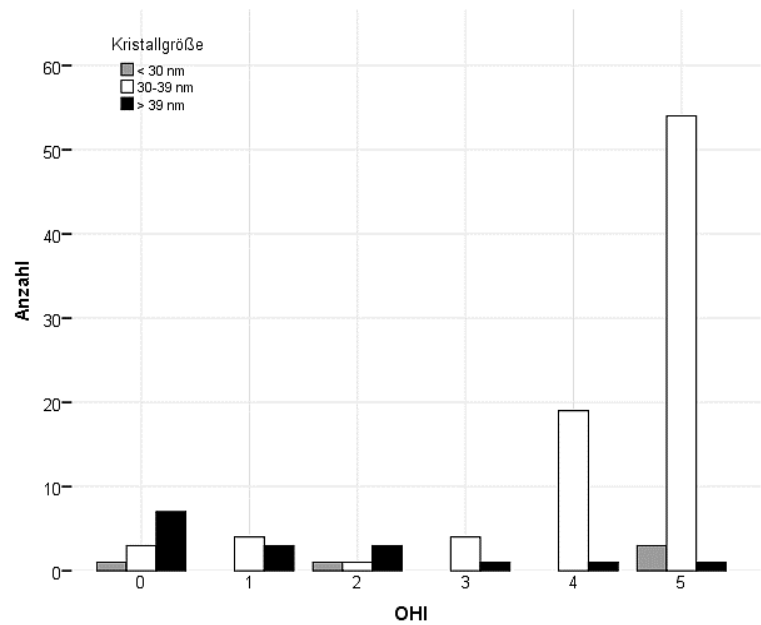
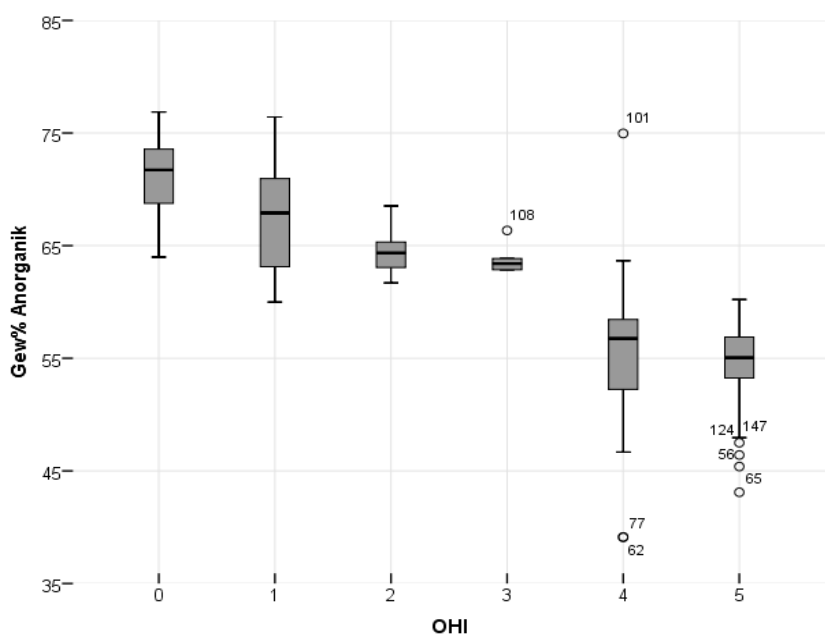


Abb. 4.54 Verteilung der erhobenen Kristallinitätsindex-Werte (IRSF = infrared splitting factor; Kristallinitätsindex, a) und der errechneten Kristallgröße (b) über den histologischen Index.



Bei den Knochen des Westfriedhofs dagegen bestand ein hoch signifikanter Zusammenhang zwischen dem histologischen Index und der Halbwertsbreite der $\nu_1\text{PO}_4^{3-}$ -Schwingung der Raman-Spektren (Spearman $R = -0,404$; Kendall $T = -0,363$), wobei hier ein OHI von 4 (beginnender bakterieller Angriff) mit einer Verbreiterung des Peaks einherging. Da im Probenkollektiv der archäologischen Knochen kein Fall mit vollkommen intakter Mikrostruktur repräsentiert war, ist an dieser Stelle der fehlende Korrelationsnachweis bei den archäologischen Proben aber nicht direkt vergleichbar.

Abb. 4.55 Anteiliges Gewicht der anorganischen Knochenfraktion in den Klassen des histologischen Indexes.

4.2.3.2 Organische Kontaminationen

Es konnte keinerlei statistischer Zusammenhang zwischen der Eindringtiefe von Huminstoffen bzw. anderweitiger organischer Kontamination des Knochens wie Pilzsporen oder Nematoden, den untersuchten mineralischen Indizes und spektralen Besonderheiten nach FTIR- und Raman-Messung hergestellt werden.

4.2.3.3 Rekristallisierung und authigene Kristallbildung

Das histologisch detektierte Auftreten von Rekristallisationsphänomenen bzw. authigen Kristallen innerhalb des Knochenquerschnitts zeigte überraschenderweise keinen statistisch belegbaren Zusammenhang mit den mineralogischen Indizes oder sonstigen spektralen Auffälligkeiten.

Die Korrelationsanalyse ergab für das gesamte Probenkollektiv lediglich eine hoch signifikante Korrelation zwischen mikrostrukturell detektierbaren Kristallen und dem Auftreten einer akzessorischen OH-Bande bei 3600 cm^{-1} im FTIR-Profil (Spearman $R = 0,351$, Kendall $T = 0,351$). Auch die Analyse mittels χ^2 -Test ergab mit $p = 0,000$ und dem Zusammenhangsmaß Cramérs $V = 0,351$ ein identisches Bild.

Die Auswertung der einzelnen untersuchten Probenkollektive zeigte hinsichtlich der archäologischen Proben keinen statistischen Zusammenhang zwischen einer histologisch nachweisbaren Kristall-Um- bzw. -Neubildung und den spektroskopisch erhobenen Parametern des Knochenminerals. Bei den Proben des Westfriedhofs ergab sich keine statistisch signifikante Korrelation mit dem C/P-Verhältnis (nach Spearman und Kendall). Jedoch zeigten jene Proben, in welchen histologische Rekristallisationsmuster nachgewiesen wurden, tendenziell niedrigere C/P-Werte, während Knochen ohne mineralische Umlagerungen mit Ausnahme von drei Ausreißern sehr konstante C/P-Werte aufwiesen.

Im Fall der archäologischen Proben äußerten sich mineralische Veränderungen der Mikrostruktur hauptsächlich in Form von authigener Kristallbildung in den physiologischen Hohlräumen des Knochens. Hier wurde deutlich, dass die fünf Proben, bei welchen ein C/P-Wert $> 0,9$ festgestellt wurde, histologisch alle zum Teil massive kristalline Kontaminationen aufwiesen, was für eine Kontamination mit carbonathaltigem Fremdmineral spricht. Vier der restlichen sieben Proben mit authigener Kristallbildung zeigten dagegen deutlich erniedrigte C/P-Werte ($< 0,7$), ein Hinweis auf den Verlust von strukturellem Carbonat. Proben mit reinen Rekristallisationsmustern, vornehmlich als Folge bakterieller Zerstörung, lagen mit ihrem C/P-Verhältnis jeweils im Bereich zwischen 0,7 und 0,9.

4.2.3.4 Histopathologie

Im Hinblick auf pathologisch auffällige mikrostrukturelle Merkmale konnte lediglich zwischen der vermehrten Resorption von Knochen (Osteoporose) und der Halbwertsbreite der $\nu_1\text{PO}_4^{3-}$ -Schwingung der Raman-Spektren eine statistisch signifikante Korrelation nachgewiesen werden, wobei sich die Korrelationskoeffizienten sehr niedrig darstellten (Spearman $R = 0,251$, Kendall $T = 0,218$). Bei mittelmäßiger bis hochgradiger Knochenresorption wurde tendenziell eine Verbreiterung des entsprechenden Peaks beobachtet.

Bei den Proben des Westfriedhofs bestand kein Zusammenhang, nur die Knochen des archäologischen Kollektivs wiesen ebenfalls eine signifikante Korrelation auf (Spearman $R = 0,399$, Kendall $T = 0,348$). Es war jedoch auffällig, dass die beiden Proben des Westfriedhofs, welche einen gestörten mikrostrukturellen Aufbau aufwiesen (WF 21a, WF 45) auch im Vergleich zu den anderen Knochen deutlich erniedrigte C/P-Werte zeigten (jeweils 0,67). Dasselbe galt für die gleichermaßen auffällige archäologische Probe OTZ 1 (0,68).

4.2.4 Zusammenhänge diagenetischer Merkmale des Kollagens

Die Korrelationsmatrix in Tabelle 4.17 zeigt, dass die festgestellten Parameter für den Kollagen-erhalt in Bezug auf das Gesamtprobenkollektiv größtenteils statistische Zusammenhänge untereinander aufweisen, wobei das molare C/N-Verhältnis die geringsten Korrelationen mit den restlichen Parametern zeigte.

Tabelle 4.17 Statistischer Zusammenhang zwischen den analysierten Kollagenparametern in Bezug auf das Gesamtprobenkollektiv (obere Zeile: Spearman R ; untere Zeile: Kendall T). Hoch signifikante Zusammenhänge sind mit „**“ markiert, n.s. = nicht signifikant.

	% C	% N	C/N-molar	Qualität (ASA)
Gew %	0,400**	0,458**	n.s.	-0,359**
	0,286**	0,318**		-0,364**
% C		0,898**	0,260**	-0,215**
		0,744**	0,182**	-0,167**
% N			n.s.	-0,220**
				-0,168**
C/N-molar				n.s.

Lediglich mit dem prozentualen Kohlenstoffanteil des Kollagens war eine hoch signifikante Korrelation festzustellen, jedoch waren die Korrelationskoeffizienten sehr niedrig. Den stärksten Zusammenhang zeigten das prozentuale Kohlenstoff- und Stickstoffverhältnis mit sehr hohen positiven Korrelationskoeffizienten. In Bezug auf die einzelnen Stichprobenkollektive wurden diverse Unterschiede in den Korrelationen deutlich.

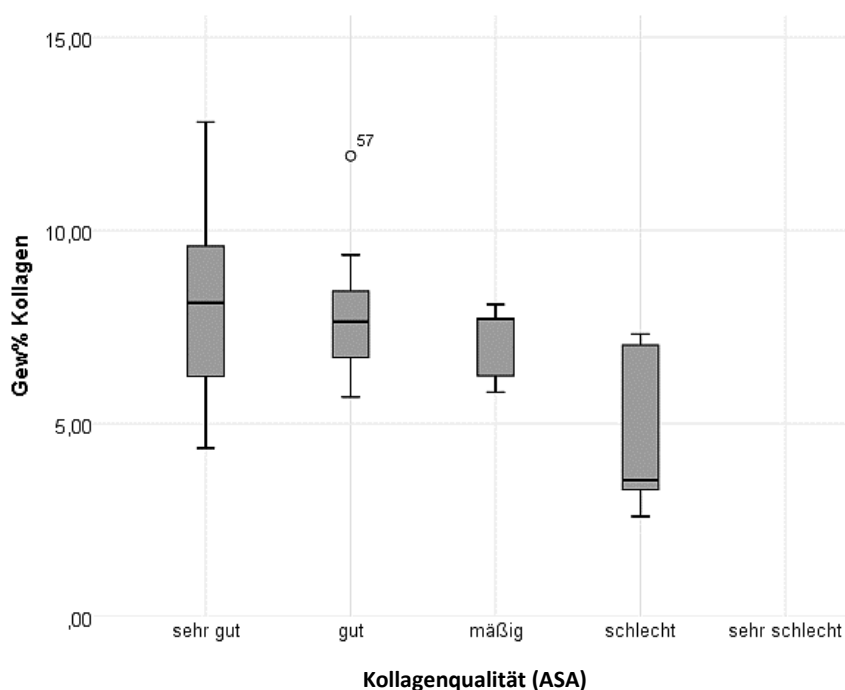
Die experimentell chemisch degradierten Knochen zeigten ähnliche Zusammenhänge wie das Gesamtkollektiv, jedoch waren hier die Korrelationskoeffizienten insgesamt höher, besonders in Hinblick auf den statistischen Zusammenhang zwischen dem molaren C/N-Verhältnis und dem

prozentualen Kohlenstoffanteil sowie dem prozentualen Kohlenstoff- und Stickstoffgehalt und der Kollagenqualität nach Aminosäureanalyse. Kein Zusammenhang wurde zwischen dem prozentualen Gewicht der organischen Fraktion und der chromatographisch bestimmten Kollagenqualität gefunden.

Bei den experimentell bakteriell degradierten Proben zeigten sich nur wenige Korrelationen zwischen den untersuchten Kollagenparametern. Lediglich der prozentuale Kohlenstoff- und Stickstoffgehalt des Kollagens wiesen einen hoch signifikanten Zusammenhang mit sehr hohen Korrelationskoeffizienten auf. Das molare C/N-Verhältnis und der prozentuale Kohlenstoffgehalt waren nur nach Spearman signifikant korreliert.

Die Gesamtzahl der Proben war mit $n = 18$ jedoch sehr niedrig für aussagekräftige statistische Analysen.

Die statistische Untersuchung von Zusammenhängen der untersuchten Kollagenparameter bei den *in situ* in der Frühphase degradierten Proben des Westfriedhofs ergab eine hoch signifikante Korrelation zwischen dem ermittelten anteiligen Gewicht der organischen Knochenfraktion am Gesamtgewicht und der qualitativen Aminosäurezusammensetzung des Kollagens, wobei schlechter Kollagenerhalt eher mit



ter Kollagenerhalt eher mit niedrigen Gewichtsanteilen in Zusammenhang gebracht werden konnte (Abb. 4.56, Tabelle 4.18).

Abb. 4.56 Zusammenhang zwischen prozentualem Kollagengewicht und der anhand der Aminosäurezusammensetzung bestimmten Kollagenqualität. Schlecht erhaltenes Kollagen wies mehrheitlich die geringsten Gewichtsanteile auf.

Die statistische Analyse der archäologischen Proben in Hinblick auf Korrelationen der festgestellten Kollagenparameter ergab andere Zusammenhänge als die für die frühdiagenetisch veränderten Proben des Westfriedhofs berechneten. Die einzige Kongruenz bestand in der hoch signifikanten und starken Korrelation zwischen dem prozentualen Kohlenstoff- und Stickstoffgehalt des Kollagens.

Tabelle 4.18 Statistischer Zusammenhang zwischen den analysierten Kollagenparametern der frühdiagenetisch veränderten Proben des Westfriedhofs (obere Zeile: Spearman R; untere Zeile: Kendall T). Hoch signifikante Zusammenhänge sind mit „**“ markiert, signifikante mit „*“, n.s. = nicht signifikant.

	% C	% N	C/N-molar	Qualität (ASA)
Gew %	n.s.	n.s.	0,337* 0,236*	-0,375** -0,300**
% C		0,793** 0,624**	n.s.	n.s.
% N			n.s.	0,282* 0,221*
C/N-molar				n.s.

Anders als bei den Proben des Westfriedhofs zeigte sich in den archäologischen Proben kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem prozentualen Kollagengewicht und der qualitativen Aminosäurezusammensetzung.

Auch der prozentuale Stickstoffgehalt war statistisch nicht mit der Kollagenqualität korreliert. Der errechnete signifikante Zusammenhang zwischen prozentualem Kohlenstoffgehalt und Kollagenqualität war jedoch zu schwach, um eine echte Korrelation zu postulieren.

Ein hohes Zusammenhangsmaß wiesen dagegen der prozentuale Kohlenstoff- und Stickstoffgehalt des Kollagens sowie dessen Gewichtsanteil am Gesamtknochen auf.

Im Fall der tierischen Vergleichsknochen konnte statistisch lediglich zwischen dem prozentualen Kohlenstoff- und Stickstoffanteil ein hoch signifikanter und stark linearer Zusammenhang bestätigt werden (Spearman R = 0,968**, Kendall T = 0,886**).

4.2.5 Korrelation mineralischer Indizes und spektraler Besonderheiten

Die verschiedenen anhand der FTIR- und Raman-Spektren berechneten Indizes zur Charakterisierung des Zustands des Knochenminerals und vom Durchschnitt abweichende spektrale Auffälligkeiten zeigten hinsichtlich des Gesamtprobenkollektivs diverse statistische Zusammenhänge. Kristallinität und Kristallgröße sind zwangsläufig stark linear korreliert, da die relative Größe der Knochenkristallite aus der Kristallinität errechnet wird. Es handelt sich demnach hierbei statistisch um eine Autokorrelation. Den stärksten hoch signifikanten Zusammenhang wiesen die Kristallinität bzw. die Kristallitgröße und das C/P-Verhältnis auf (Tabelle 4.19). Das negative Vorzeichen macht deutlich, dass die Zunahme des einen Faktors mit einer Abnahme des anderen in Verbindung steht.

Tabelle 4.19 Korrelationsmatrix zwischen den mineralischen Charakteristika in Bezug auf das Gesamtprobenkollektiv (obere Zeile: Spearman R; untere Zeile: Kendall T). Hoch signifikante Zusammenhänge sind mit „**“ markiert, signifikante mit „*“, n.s. = nicht signifikant. CI = Kristallinitätsindex, FWHM = Halbwertsbreite.

	Kristallgröße	C/P	Pos. $\nu_2\text{CO}_3^{2-}$	OH-Bande	Pos. $\nu_1\text{PO}_4^{3-}$ (Raman)	FWHM $\nu_1\text{PO}_4^{3-}$ (Raman)
CI	0,984**	-0,589**	0,571**	0,226**	n.s.	n.s.
	0,924**	-0,469**	0,449**	0,198**		
Kristallgröße		-0,585**	0,570**	0,224**	n.s.	n.s.
		-0,437**	0,418**	0,184**		
C/P			n.s.	-0,221**	n.s.	0,212**
				-0,185**		0,160**
Pos. $\nu_2\text{CO}_3^{2-}$				-0,366**	n.s.	n.s.
				-0,301**		
OH-Bande					n.s.	-0,256*
						-0,218*
Pos. $\nu_1\text{PO}_4^{3-}$ (Raman)						n.s.

Das prozentuale Gewicht der anorganischen Knochenfraktion zeigte mit fast allen untersuchten mineralischen Indizes eine statistisch hoch signifikante Korrelation, außer mit der Position der ν_1 -Phosphatbande. Die Korrelationskoeffizienten waren jedoch in der Regel gering ($< 0,300$), was auf ein nicht-lineares Verhältnis schließen lässt. Eine mit $R = 0,542$ ($T = 0,444$) stärkere Korrelation bestand mit dem Auftreten der akzessorischen OH-Bande in den FTIR-Spektren (Abb. 4.57).

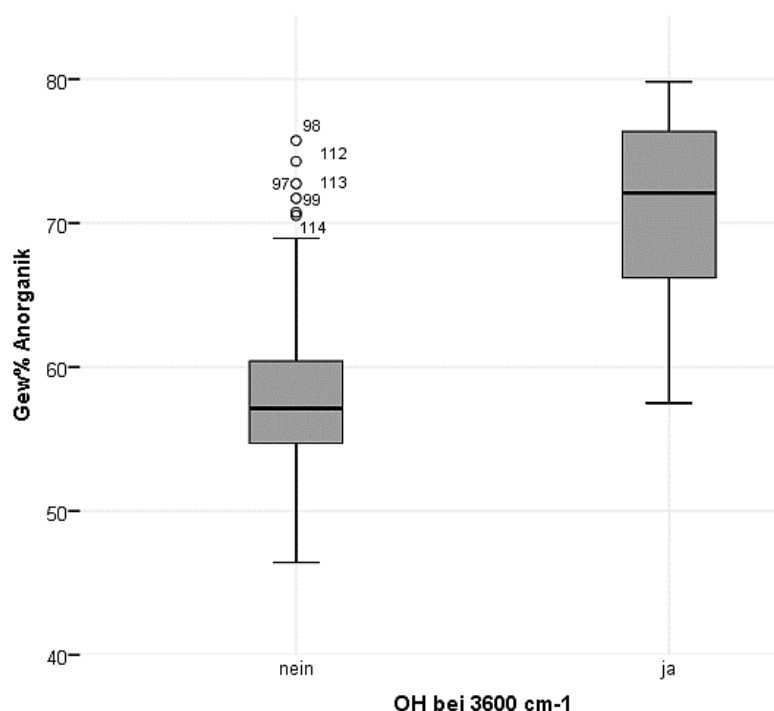


Abb. 4.57 Zusammenhang zwischen den prozentualen Gewicht der anorganischen Knochenfraktion und dem Auftreten einer akzessorischen OH-Bande im FTIR-Spektrum.

Die experimentell chemisch degradierten Proben zeigten insgesamt ein ähnliches Korrelationsmuster wie das Gesamtprobenkollektiv, jedoch waren die Korrelationskoeffizienten insgesamt noch höher. Dies zeigte sich besonders deutlich bei der akzessorischen OH-Bande im FTIR-Spektrum, welche mit fast allen anderen Mineralparametern hoch signifikant korrelierte. Auch hier stellte sich die Korrelation zwischen dem prozentualen Gewicht der anorganischen Fraktion und dem Auftreten einer akzessorischen OH-Bande im FTIR-Spektrum, welche erst ab einem Gewichtsanteil $> 65\%$ beobachtet

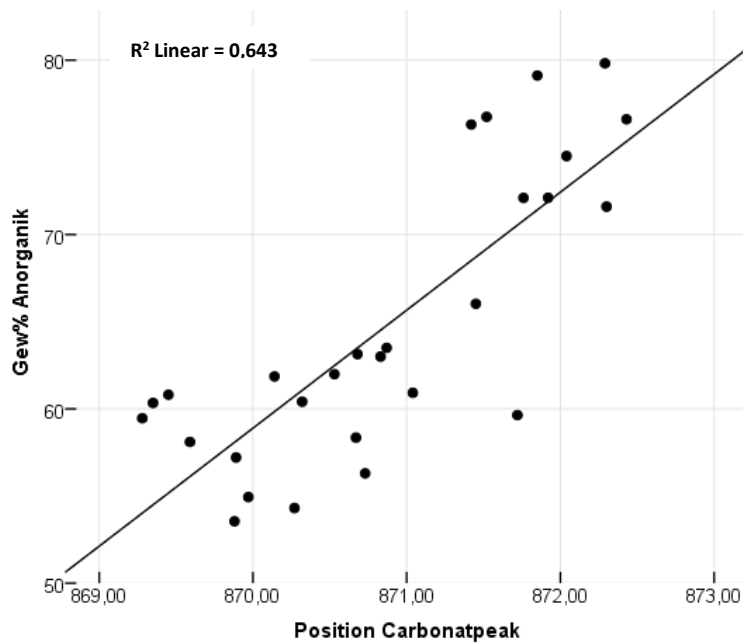


Abb. 4.58 Verschiebung der ν_2 -Carbonatbande mit zunehmendem prozentualen Gewicht der anorganischen Knochenfraktion in den experimentell chemisch degradierten Proben.

werden konnte, als sehr stark linear und hoch signifikant dar (Spearman $R = 0,837$, Kendall $T = 0,696$, Abb. 4.58).

Aber auch mit weiteren Parametern bestand ein starker, hoch signifikanter Zusammenhang (Position ν_2 -Carbonatbande: $R = 0,782$, $T = 0,587$; siehe Abb. 4.58; CI: $R = 0,720$, $T = 0,520$; Kristallgröße: $R = 0,727$, $T = 0,506$).

In den übrigen Probenkollektiven stellten sich die Zusammenhänge deutlich schwächer dar.

Dabei ähnelten sich interessanterweise die Korrelationsmuster der experimentell bakteriell degra-

dierten und der archäologischen Proben. Dabei konnte lediglich zwischen der Kristallinität/Kristallgröße und dem C/P-Verhältnis ein hoch signifikanter Zusammenhang erkannt werden (Korrelationskoeffizienten jeweils $>0,500$). Dasselbe galt für die Korrelation zwischen der Halbwertsbreite der Hauptphosphatbande des Raman-Spektrums sowie dem C/P-Verhältnis. Eine Verbreiterung des Peaks war hierbei mit einem Absinken des C/P-Verhältnisses korreliert. Bei den archäologischen Proben war weiterhin ein hoch signifikanter Zusammenhang zwischen dem prozentualen Gewicht der anorganischen Knochenfraktion und der Position der ν_2 -Carbonatbande erkennbar ($R = 0,448$, $T = 0,339$).

Die frühdiagenetisch *in situ* veränderten Proben des Westfriedhofs zeigten generell nur geringe Variationen hinsichtlich der untersuchten mineralischen Parameter, weshalb auch die Korrelation der einzelnen Merkmale schwächer war als im Gesamtprobenkollektiv. Es konnte lediglich ein statistisch hoch signifikanter Bezug zwischen Kristallinität bzw. Kristallgröße und der Position der ν_2 -Carbonatbande im FTIR-Spektrum hergestellt werden ($R = 0,495$, $T = 0,407$ bzw. $R = 0,537$, $T = 0,354$). Eine akzessorische OH-Bande wurde in keiner der 50 Proben nachgewiesen. Der einzige Faktor, in welchem die Proben eine deutliche Variabilität aufwiesen, war die Position der ν_1 -Phosphatbande der Raman-Spektren.

4.2.6 Zusammenhang zwischen Kollagenerhalt und mineralischen Indizes

Es zeigte sich, dass die untersuchten Kollagenparameter und die festgestellten mineralischen Indizes auf zahlreichen Ebenen hoch signifikant korreliert waren, wobei die Korrelationskoeffizienten größtenteils sehr niedrig erschienen und damit einen strikt linearen Zusammenhang ausschließen.

Die höchsten Korrelationskoeffizienten konnten für den Zusammenhang zwischen relativem Kollagengewicht und Kristallinität bzw. Kristallgröße nachgewiesen werden, wobei das negative Vorzeichen ein inverses Verhältnis andeute (siehe Tabelle 4.20). Ein ebenso guter Zusammenhang bestand mit der Position der ν_2 -Carbonatbande in den FTIR-Spektren, welche jedoch ausschließlich mit dem relativen Kollagengewicht korrelierte, sowie dem Auftreten der akzessorischen OH-Bande des FTIR-Spektrums.

Tabelle 4.20 Statistische Zusammenhänge zwischen den untersuchten Kollagen- und Mineralparametern bezogen auf die Gesamtstichprobe (obere Zeile: Spearman R; untere Zeile: Kendall T). Hoch signifikante Zusammenhänge sind mit „**“ markiert, signifikante Zusammenhänge mit „*“, n.s. = nicht signifikant. CI = Kristallinitätsindex, FWHM = Halbwertsbreite.

	CI	Kristallgröße	C/P	Pos. $\nu_2\text{CO}_3^{2-}$	OH-Bande	Pos. $\nu_1\text{PO}_4^{3-}$ (Raman)	FWHM $\nu_1\text{PO}_4^{3-}$ (Raman)
Gew %	-0,469**	-0,479**	0,179*	-0,482**	-0,347**	-0,205*	n.s.
	-0,359**	-0,346**	0,122*	-0,342**	-0,284**	-0,135*	
% C	-0,230*	-0,235*	0,229*	n.s.	-0,262**	n.s.	0,210*
	-0,168*	-0,181*	0,156*		-0,223**		0,142*
% N	-0,250**	-0,247**	0,203*		-0,377**		0,199*
	-0,190**	-0,171**	0,148*	n.s.	-0,309**	n.s.	0,132*
C/N-molar			0,213*				
	n.s.	n.s.	0,153*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Qualität (ASA)					0,233**	0,193*	-0,201*
	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,216**	0,146*	-0,158*

Der Zusammenhang zwischen dem prozentualen Anteil der anorganischen und der organischen Knochenfraktion war zwar statistisch hoch signifikant, aber nicht so stark linear wie erwartet ($R = -0,445$, $T = -0,305$). Stattdessen bestand eine etwas stärkere Korrelation zwischen dem prozentualen Stickstoffgehalt des Kollagens und dem prozentualen Gewicht der anorganischen Matrix ($R = -0,487$, $T = -0,337$). Die Korrelation mit dem prozentualen Kohlenstoffgehalt war etwas schwächer ($R = -0,387$, $T = -0,267$), und der Zusammenhang mit der chromatographisch bestimmten Qualität des Kollagens kaum linear ($R = 0,286$, $T = 0,221$).

Für die experimentell chemisch degradierten Proben ergaben sich wesentlich stärkere Zusammenhänge zwischen den untersuchten Parametern des Knochenkollagens und -minerals als für das Gesamtprobenkollektiv. Die stärkste, hoch signifikante Korrelation wurde zwischen dem Auftreten der akzessorischen OH-Bande in den FTIR-Spektren, dem prozentualen Kollagengewicht sowie dessen Stickstoff- und Kohlenstoffgehalt festgestellt (siehe Tabelle 4.21). Aber auch die

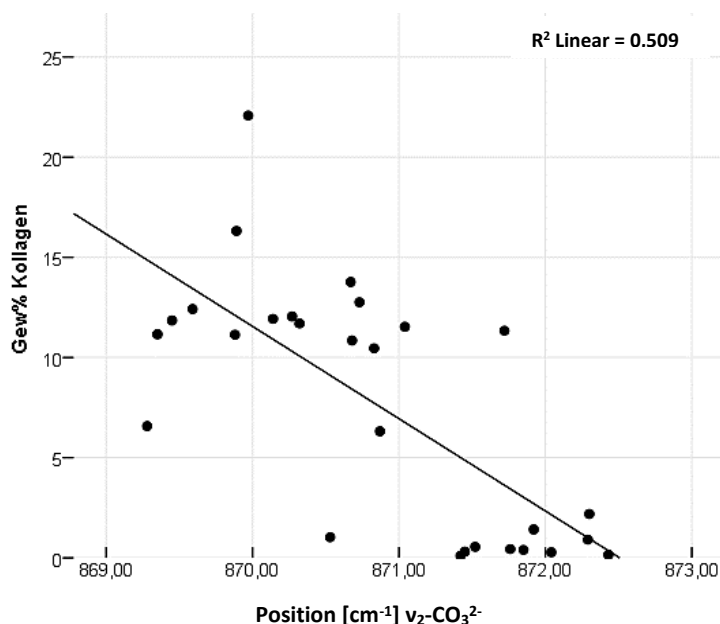
4. ERGEBNISSE

Kristallinität und damit ebenso die Kristallgröße korrelierten hoch signifikant und mit hohen Korrelationskoeffizienten mit diesen Parametern.

Tabelle 4.21 Korrelationsmatrix zwischen den untersuchten Kollagen- und Mineralparametern der experimentell chemisch degradierten Proben (obere Zeile: Spearman R; untere Zeile: Kendall T). Hoch signifikante Zusammenhänge sind mit „***“ markiert, signifikante Zusammenhänge mit „**“, n.s. = nicht signifikant. CI = Kristallinitätsindex, FWHM = Halbwertsbreite.

	CI	Kristallgröße	C/P	Pos. $\nu_2\text{CO}_3^{2-}$	OH-Bande	Pos. $\nu_1\text{PO}_4^{3-}$ (Raman)	FWHM $\nu_1\text{PO}_4^{3-}$ (Raman)
Gew %	-0,684**	-0,661**	0,416*	-0,681**	-0,817**	n.s.	0,361*
	-0,472**	-0,431**	n.s.	-0,466**	-0,680**		0,284*
% C	-0,565**	-0,572**	0,421*	-0,420*	-0,744**	n.s.	n.s.
	-0,401**	-0,399**	0,299*	n.s.	-0,621**		
% N	-0,652**	-0,650**	0,499**	-0,474*	-0,825**	n.s.	0,356*
	-0,471**	-0,454**	0,353*	n.s.	-0,686**		n.s.
C/N-molar	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Qualität (ASA)	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-0,391*
							-0,343*

Ein hoch signifikanter Zusammenhang bestand weiterhin zwischen der Position der ν_2 -Carbonatbande in den FTIR-Spektren und dem prozentualen Kollagengewicht, wobei eine niedrige Gewichtsausbeute mit höheren Wellenzahlen in Zusammenhang gebracht werden konnte (vgl. Abb. 4.59).



Der Zusammenhang zwischen den prozentualen Gewichtsanteilen der organischen und anorganischen Fraktion stellte sich hier wesentlich stärker dar als im Vergleich mit der Gesamtstichprobe ($R = -0,816$, $T = -0,605$).

Abb. 4.59 Zusammenhang zwischen dem prozentualen Kollagengewicht und der Position der ν_2 -Carbonatbande in den FTIR-Spektren der hydrolytisch degradierten Proben.

In den anderen Stichprobensets waren die Zusammenhänge nicht oder wesentlich schwächer erkennbar. Dies lag vor allem daran, dass die mineralischen Indizes in den experimentell bakteriell degradierten und den Proben des Westfriedhofs generell eine hohe Konstanz aufwiesen. Lediglich die archäologischen Proben zeigten ein abweichendes Bild. Hier konnten deutlichere, zum Teil hoch signifikante Zusammenhänge beobachtet werden (vgl. Tabelle 4.22).

Die hoch signifikante Korrelation der in den FTIR-Spektren auftretenden akzessorischen OH-Bande und des molaren C/N-Verhältnisses basierte auf der tendenziell stärkeren Assoziation höherer C/N-Werte mit einem Auftreten der zusätzlichen FTIR-Bande. Bei den experimentell chemisch degradierten Proben war genau das Gegenteil der Fall. Auch das C/P-Verhältnis korrelierte hoch signifikant mit dem molaren C/N-Quotienten. Hier war auffällig, dass C/P-Werte > 0,9 mit erhöhten C/N-Werten in Zusammenhang standen. Derselbe Trend zeigte sich in allen Probenkollektiven.

Das prozentuale Gewicht der anorganischen Knochenfraktion korrelierte statistisch hoch signifikant mit dem organischen Gewichtsanteil, jedoch waren die Korrelationskoeffizienten relativ niedrig ($R = -0,440$, $T = -0,310$).

Tabelle 4.22 Korrelationsmatrix zwischen den untersuchten Kollagen- und Mineralparametern der archäologischen Knochenproben (obere Zeile: Spearman R; untere Zeile: Kendall T). Hoch signifikante Zusammenhänge sind mit „**“ markiert, signifikante Zusammenhänge mit „*“, n.s. = nicht signifikant. CI = Kristallinitätsindex, FWHM = Halbwertsbreite.

	CI	Kristallgröße	C/P	Pos. $\nu_2\text{CO}_3^{2-}$	OH-Bande	Pos. $\nu_1\text{PO}_4^{3-}$ (Raman)	FWHM $\nu_1\text{PO}_4^{3-}$ (Raman)
Gew %	n.s.	n.s.	n.s.	-0,509** -0,364**	n.s.	n.s.	n.s.
% C	-0,372* -0,293*	-0,364* -0,273*	n.s.	-0,389* -0,256*	0,369* 0,306*	n.s.	n.s.
% N	n.s.	n.s.	n.s.	-0,337* -0,245*	n.s.	n.s.	n.s.
C/N-molar	-0,629** -0,475**	-0,641** -0,461**	0,482** 0,379**	n.s.	0,514** 0,429**	n.s.	n.s.
Qualität (ASA)	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

4.3 Auswirkungen intrinsischer und extrinsischer Faktoren auf die Integrität des Gewebes

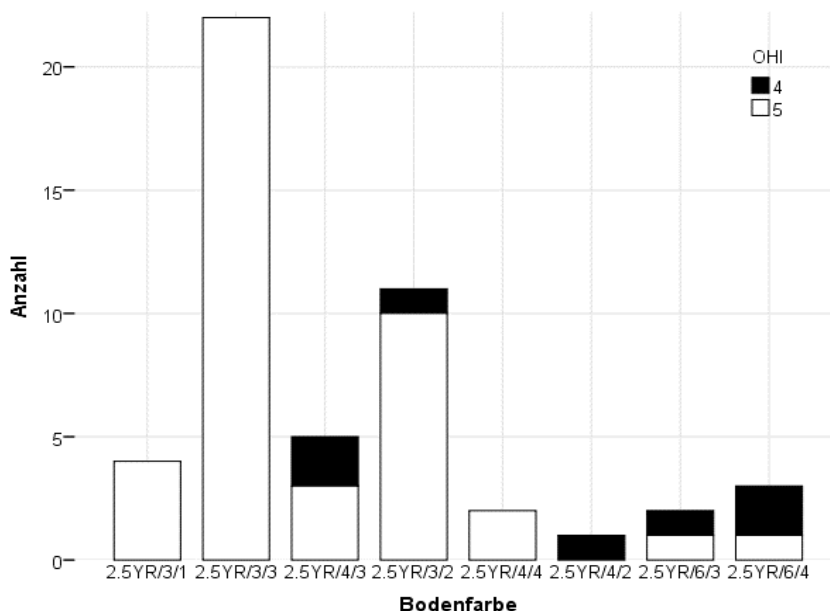
4.3.1 Einfluss des Liegemilieus

4.3.1.1 Auswirkungen der Bodenparameter auf den mikrostrukturellen Erhalt des Knochens

Die statistische Analyse zeigte, dass lediglich die Farbe des Bodens einen hoch signifikanten Zusammenhang mit dem histologischen Index, sprich der Klassifizierung mikrostrukturell erkennbaren bakteriellen Angriffs, aufwies (χ^2 nach Pearson, Cramér's V = 0,675). Alle anderen getesteten Bodenparameter zeigten keine Korrelation.

Bei der mit 44 % am häufigsten vertretenen Bodenfarbe, 2.5YR/3/3, konnten in keinem Fall bakterielle Bohrkanäle in der Mikrostruktur der Knochen festgestellt werden, während die Prävalenz in anderen Farbklassen teilweise sehr hoch war (siehe Abb. 4.60). Dies betraf vor allem die helleren Farbschattierungen 2.5YR/6/3, 2.5YR/ 6/4, aber auch den dunkleren Ton 2.5YR/4/2.

Die Eindringtiefe von Huminstoffen in die Knochen zeigte keinen statistisch nachweisbaren Zusammenhang mit den erhobenen Bodenparametern, jedoch wurde eine schwach signifikante Korrelation zwischen der Konsistenz des Bodens und dem Auftreten von periostalen Rekristallisationsphänomenen errechnet



errechnet (χ^2 nach Pearson = 0,028, Cramér's V = 0,377), welche eher in lockerem, seltener in weichem Boden auftrat.

In festem Boden wurde keine Rekristallisation beobachtet, jedoch kann dies aufgrund der geringen Anzahl der Fälle festen Bodens (n = 3) nicht als besonders aussagekräftig gewertet werden, was auch durch das recht niedrige Zusammenhangsmaß reflektiert wird.

Abb. 4.60 Assoziation von unversehrter Mikrostruktur bzw. beginnender bakterieller Zerstörung mit der jeweiligen Bodenfarbe.

Ebenso wurde ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem pH-Wert des Bodens und dem Auftreten von Rekristallisationsmustern festgestellt (χ^2 nach Pearson = 0,018, Cramér's V = 0,809), wobei sich hier nur eine Tendenz abzeichnete. Periostale Rekristallisation konnte zwar eher bei niedrigeren Boden-pH-Werten (Median < 7,5) beobachtet werden, jedoch war die Variationsbreite sehr hoch und umfasste pH-Werte von < 7,0 bis > 8,0.

4.3.1.2 Einfluss des Liegemilieus auf den Kollagenerhalt

Hinsichtlich der getesteten Kollagenparameter (Gew %, % C, % N, C/N-molar, Kollagenqualität nach Aminosäureanalyse) konnte keine statistisch signifikante Korrelation mit den analysierten Bodenmerkmalen (Farbe, Konsistenz, Textur, pH-Wert, relativer Carbonatgehalt) nachgewiesen werden.

4.3.1.3 Einfluss des Bestattungsmilieus auf die mineralische Matrix

Die Knochen des Probenkollektivs Westfriedhof, für welche Bodenproben ausgewertet werden konnten, wiesen insgesamt recht homogene Werte hinsichtlich der untersuchten Mineralparameter auf, deutliche Abweichungen waren nur in Bezug auf das C/P-Verhältnis bzw. Unterschiede in der Position der Hauptphosphatbande in den Raman-Spektren erkennbar. Die Bodenfarben, welche mit den meisten Veränderungen der mineralischen Parameter assoziiert waren, waren die hellere Nuance 2.5YR/6/3 sowie 2.5YR/3/2. Es konnten jedoch in Verbindung mit allen Bodensfarbklassen Veränderungen der mineralischen Parameter beobachtet werden, lediglich bei 2.5YR/4/2 traten keine Auffälligkeiten auf. Jedoch handelte es sich hierbei auch nur um zwei Fälle. Im Hinblick auf den pH-Wert des Bodens wurde festgestellt, dass C/P-Werte > 0,9 ausschließlich bei alkalischen pH-Werten (> 8,0) auftraten.

4.3.2 Liegezeit

4.3.2.1 Zusammenhang zwischen der Liegezeit und histologischen Markern

Es konnte insgesamt eine statistisch hoch signifikante Korrelation zwischen der Liegezeit der Knochen und dem Ausmaß des histologisch feststellbaren bakteriellen Befalls festgestellt werden, wobei die Korrelationskoeffizienten nach Spearman und Kendall zu deutlich unterschiedlichen Ergebnissen kamen ($R = -0,520$, $T = -0,388$). Ebenso hoch signifikant korreliert waren die Liegezeit und das Auftreten von Rekristallisationsphänomenen bzw. die Bildung authigener Kristalle innerhalb der Knochenquerschnitte ($R = 0,551$, $T = 0,459$). Dabei wurde bei den frühdiagenetisch beeinflussten Proben des Westfriedhofs eher eine lokale periostale Auflösung des Minerals mit

Rekristallisation beobachtet, während die archäologischen Proben vorwiegend echte Kristallformation aufwiesen (siehe 4.1.2.2).

Kein statistisch nachweisbarer Zusammenhang bestand zwischen der Liegezeit und der Eindringtiefe von Huminstoffen in das Gewebe.

Bei getrennter Betrachtung der Probenkollektive „Westfriedhof“ und „archäologische Knochen“ konnte keine statistisch signifikante Korrelation zwischen der Liegezeit und dem bakteriellen Befall der Knochen belegt werden, aber die histologisch beobachtbare Eindringtiefe von Huminstoffen zeigte einen signifikanten Zusammenhang, wobei die Korrelationen jeweils nur schwach waren ($R = 0,311$, $T = 0,250$ bzw. $R = 0,337$, $T =$ nicht signifikant).

Durchschnittlich waren Huminstoffe erst nach einer Liegezeit von über 35 Jahren tiefer als 500 μm in den Knochen eingedrungen, was sich in etwa mit der durchschnittlichen Haltbarkeitsdauer der Särge deckte, welche im Schnitt 27 Jahre betrug (vgl. 4.3.4.1). Bei den archäologischen Proben wurde eine Eindringtiefe von mehr als 500 μm nur in Knochen mit Liegezeiten unter 1000 Jahren beobachtet, wobei lediglich drei Proben eine derart starke Kontamination mit Huminstoffen zeigten, was die statistische Aussagekraft als wenig repräsentativ erscheinen lässt.

Auch bei den unbestatteten tierischen Vergleichsknochen bestand kein Zusammenhang zwischen der Depositionszeit und dem Auftreten von bakteriellen Zerstörungsmustern.

4.3.2.2 Einfluss der Liegezeit auf die Integrität des Kollagens

In Bezug auf das gesamte Probenkollektiv zeigte die Liegezeit teilweise sehr deutliche Zusammenhänge mit den untersuchten Kollagenparametern, wobei der relative Gewichtsanteil der organischen Knochenfraktion und der prozentuale Stickstoffgehalt die höchsten Korrelationskoeffizienten aufwiesen (siehe Tabelle 4.23, Abb. 4.61). Den schwächsten, lediglich signifikanten Zusammenhang zeigte die auf die Aminosäurezusammensetzung basierte Kollagenqualität.

Bei den frühdiagenetisch beeinflussten Proben wiesen jene mit längeren Liegezeiten eine höhere Gewichtsausbeute der Organik auf als Knochen mit kürzerem postmortalem Intervall. Das niedrigste prozentuale Gewicht des Kollagens zeigten hier überraschenderweise Proben bis 20 Jahren Liegezeit. Derselbe Trend war hinsichtlich der chromatographisch bestimmten Kollagenqualität auszumachen (siehe Abb. 4.62), welche jedoch nach beiden Korrelationsberechnungen lediglich eine signifikante Korrelation mit der Liegezeit zeigte ($R = -0,352$, $T = -0,274$).

Bei den archäologischen Proben konnte kein Zusammenhang zwischen der Liegezeit und der Kollagenqualität festgestellt werden. Dafür korrelierten hier neben dem prozentualen Kollagengehalt nach der Extraktion ($R = -0,396$, $T = -0,268$) auch der prozentuale Stickstoff- ($R = -0,421$, $T = -0,271$) und Kohlenstoffgehalt ($R = -0,445$, $T = -0,275$) mit der Liegezeit. Jedoch war nur die Korrelation mit letzterem statistisch hoch signifikant, wobei die Regressionsanalyse nur einen schwachen Einfluss der Liegezeit auf den prozentualen Kohlenstoff- ($R^2 = 0,038$) und Stickstoffgehalt ($R^2 = 0,088$) ergab. Tendenziell waren diese Parameter in älteren Proben niedriger.

Tabelle 4.23 Statistischer Zusammenhang zwischen der Liegezeit und den untersuchten Kollagenparametern der bodengelagerten Proben (obere Zeile: Spearman R; untere Zeile: Kendall T). Hoch signifikante Zusammenhänge sind mit „**“ markiert.

	Liegezeit
Gew% Kollagen	-0,665**
	-0,461**
% C	-0,483**
	-0,345**
% N	-0,610**
	-0,448**
C/N-molar	0,396**
	0,287**
Qualität (ASA)	0,229*
	0,179*

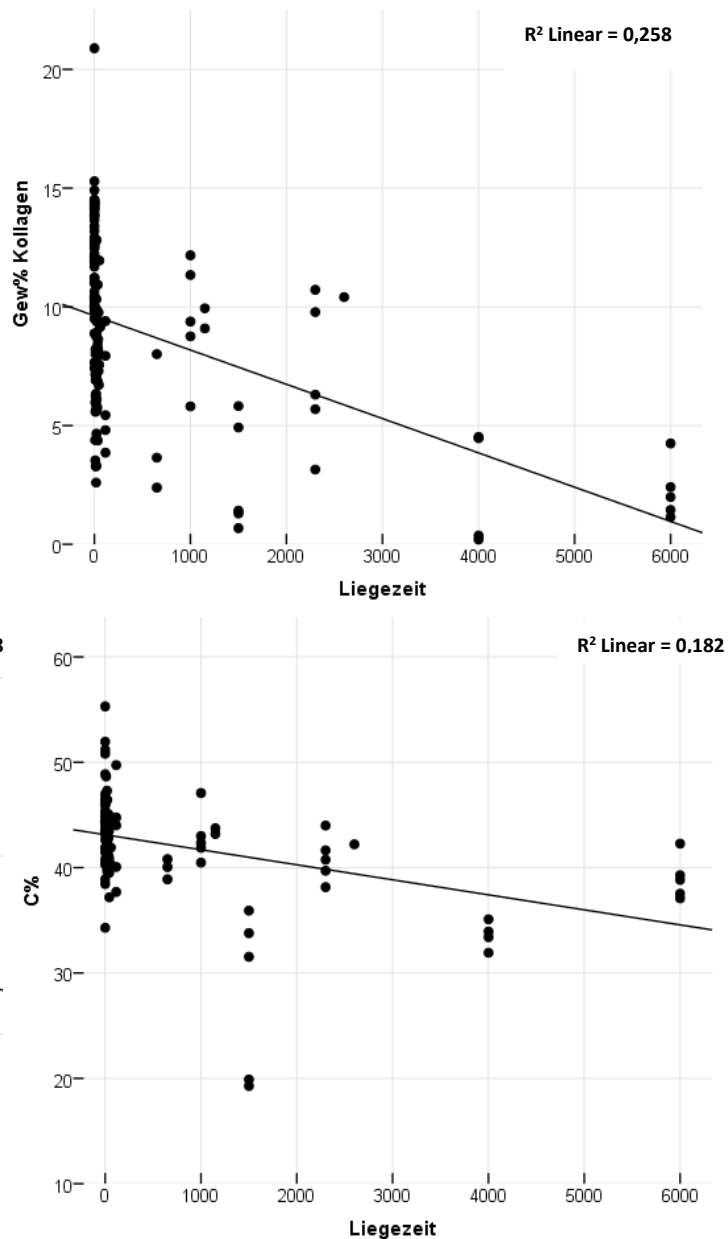


Abb. 4.61 Graphischer Zusammenhang zwischen der Liegezeit, dem extrahierten relativen Gewicht der organischen Knochenfraktion sowie dem prozentualen Stickstoff- und Kohlenstoffgehalt.

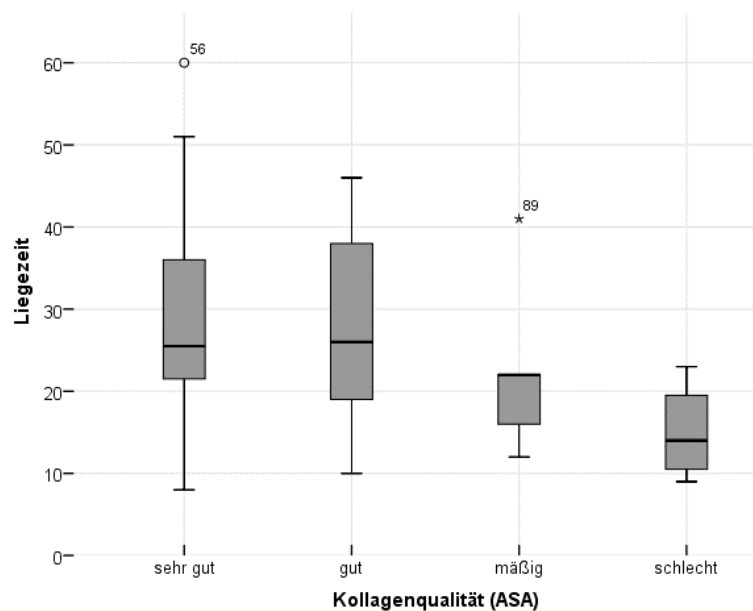


Abb. 4.62 Zusammenhang zwischen der anhand der Aminosäurezusammensetzung bestimmten Kollagenqualität und der Liegezeit der frühdiagenetisch beeinflussten Proben des Westfriedhofs.

4.3.2.3 Zusammenhänge zwischen der Liegezeit und den mineralischen Indizes

Die statistische Analyse ergab hinsichtlich der Gesamtstichprobe eine hoch signifikante und starke Korrelation zwischen der Liegezeit und dem relativen Gewicht der anorganischen Knochenfraktion, welches in den archäologischen Knochen durchschnittlich höher war als bei den Proben des Westfriedhofs. Jedoch unterschieden sich die beiden Korrelationskoeffizienten maßgeblich (siehe Tabelle 4.24). Ebenfalls statistisch hoch signifikant zeigte sich das Verhältnis zwischen Liegezeit und Kristallinit bzw. Kristallgrößen der Proben, welche in den Knochen mit langen Liegezeiten höher waren als bei den frühdiagenetisch beeinflussten Proben.

Innerhalb der Proben des Westfriedhofs wurde lediglich eine signifikante Korrelation zwischen der Liegezeit und dem C/P-Verhältnis errechnet ($R = -0,307$, $T = -0,241$). Jedoch ergab die lineare Regressionsanalyse nur einen sehr schwachen Einfluss der Liegezeit auf das C/P-Verhältnis ($R^2 = 0,088$).

Auch bei den archäologischen Proben konnte lediglich ein Zusammenhang zwischen dem C/P-Verhältnis und der Liegezeit hergestellt werden, jedoch war dieser statistisch hoch signifikant ($R = 0,471$, $T = 0,377$). Diese Beobachtung scheint aber

Tabelle 4.24 Statistischer Zusammenhang zwischen Liegezeit und mineralischen Indizes in Bezug auf die Gesamtstichprobe (obere Zeile: Spearman R; untere Zeile: Kendall T). Hoch signifikante Zusammenhänge sind mit „**“ markiert, signifikante mit „*“

	Liegezeit
CI	0,388** 0,314**
Kristallgröße	0,421** 0,326**
C/P	n.s.
Pos. $\nu_2\text{CO}_3^{2-}$	0,225* 0,151*
OH-Bande	0,204* 0,170*
Pos. $\nu_1\text{PO}_4^{3-}$ (Raman)	n.s.
FWHM $\nu_1\text{PO}_4^{3-}$ (Raman)	n.s.
Gew% Anorganik	0,694** 0,498**

vielmehr fundort- als zeitabhängig zu sein, da alle der fünf neolithischen Proben aus Bruchsal, welche die ältesten Knochen des Kollektivs sind, stark erhöhte C/P-Werte aufwiesen. Werden die entsprechenden Proben aus der Analyse ausgeschlossen, zeigt sich kein signifikanter Zusammenhang mehr zwischen der Liegezeit und dem C/P-Verhältnis.

4.3.3 Einfluss von Geschlecht, Sterbealter und Skelettelement auf den Knochen- halt

4.3.3.1 Auswirkungen auf die mikrostrukturelle Integrität

Die statistische Analyse ergab einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Geschlecht und der histologisch feststellbaren Knochenresorptionsintensität ($R = -0,270$, $T = -0,270$). Dies ist insofern relevant, da der Porositätsgrad der Knochen einen Einfluss auf das Dekompositionsverhalten des Gewebes haben könnte.

Erwartungsgemäß war die Osteoporose-Prävalenz bei weiblichen Individuen höher als bei Männern, wobei auch bei diesen zahlreiche Fälle mit mittlerer bis schwerer Knochenresorption festgestellt wurden. So wiesen 2/3 der Knochen von Frauen deutliche Anzeichen von Osteoporose auf, während es bei männlichen Individuen immerhin die Hälfte betraf. Weder die Intensität postmortalen bakteriellen Angriffs, noch die Eindringtiefe von Huminstoffen oder das Auftreten mikrostruktureller Auffälligkeiten wie Haltelinien oder periostalen Auflagerungen zeigten jedoch einen Zusammenhang mit dem Geschlecht des Individuums.

Dagegen wies das Individualalter eine statistisch hoch signifikante und starke Korrelation mit dem histologischen Index auf ($R = 0,651$, $T = 0,582$). Dabei dominierte die Altersklasse *Senilis* die histologischen Indexstufen 4 und 5 deutlich. Jedoch dürfte dies eher den hohen Anteil seniler Individuen im Probenkollektiv Westfriedhof reflektieren, in welchem die Proben einen erheblich besseren histologischen Erhalt zeigten als die archäologischen Proben, bei welchen die Mehrzahl der Individuen adult oder matur waren. Der Zusammenhang ist somit eher als Pseudokorrelation einzuschätzen. Dasselbe gilt für den hoch signifikanten Zusammenhang zwischen dem Individualalter und der Formation authigener Kristalle bzw. Rekristallisationsphänomenen ($R = -0,375$, $T = -0,358$), welcher suggeriert, dass deutlich weniger Individuen der Altersklasse *Senilis* Kristallbildung im histologischen Schnitt zeigten. Dies dürfte wiederum auf die ungleiche Altersverteilung in den Probenkollektiven zurückzuführen sein und wird dadurch deutlicher, wenn die Stichprobensets getrennt analysiert werden. Bei getrennter statistischer Auswertung wurden keine Korrelationen festgestellt, jedoch waren im archäologischen Probenkollektiv überwiegend adulte Individuen in den histologischen Klassen 0 bis 2, welche einen schlechten mikrostrukturellen Erhalt beschreiben, anzutreffen.

Das Individualalter korrelierte weiterhin hoch signifikant mit der Knochenresorption ($R = 0,282$, $T = 0,269$). Die schwachen Korrelationskoeffizienten geben den Umstand wieder, dass das vermehrte Auftreten von Osteoporose zwar auf keine Altersklasse beschränkt war (in allen Klassen war jeweils etwa die Hälfte der Individuen von vermehrter Resorption betroffen), jedoch wurde sie bei senilen Individuen häufiger beobachtet. Hier zeigten 2/3 der Knochen mittlere bis hochgradige Knochenresorption.

Die statistische Beurteilung des Einflusses der Art des untersuchten Skelettelements auf den histologischen Knochenerhalt ist in Hinblick auf die humanen, bodengelagerten Proben schwierig, da im Vorfeld die Untersuchung eines Skelettelements bevorzugt wurde, um Einflüsseffekte auszuschließen. Die Knochen des Westfriedhofs variierten zwar leicht in ihrer Zusammenstellung (Femur: $n = 30$, Tibia: $n = 15$, Humerus: $n = 5$), jedoch wurden hier lediglich sieben Fälle mit beginnender bakterieller Zerstörung ($OHI = 4$) registriert, bei welchen es sich ausschließlich um Femora handelte. Die archäologischen Proben setzten sich bis auf eine Ausnahme ausschließlich aus Femora zusammen.

Bei den unbestatteten tierischen Vergleichsknochen bestand eine höhere Varianz hinsichtlich der untersuchten Skelettelemente, jedoch konnte auch hier kein Zusammenhang mit dem histologischen Erhalt festgestellt werden.

4.3.3.2 Zusammenhänge mit der Integrität des Kollagens

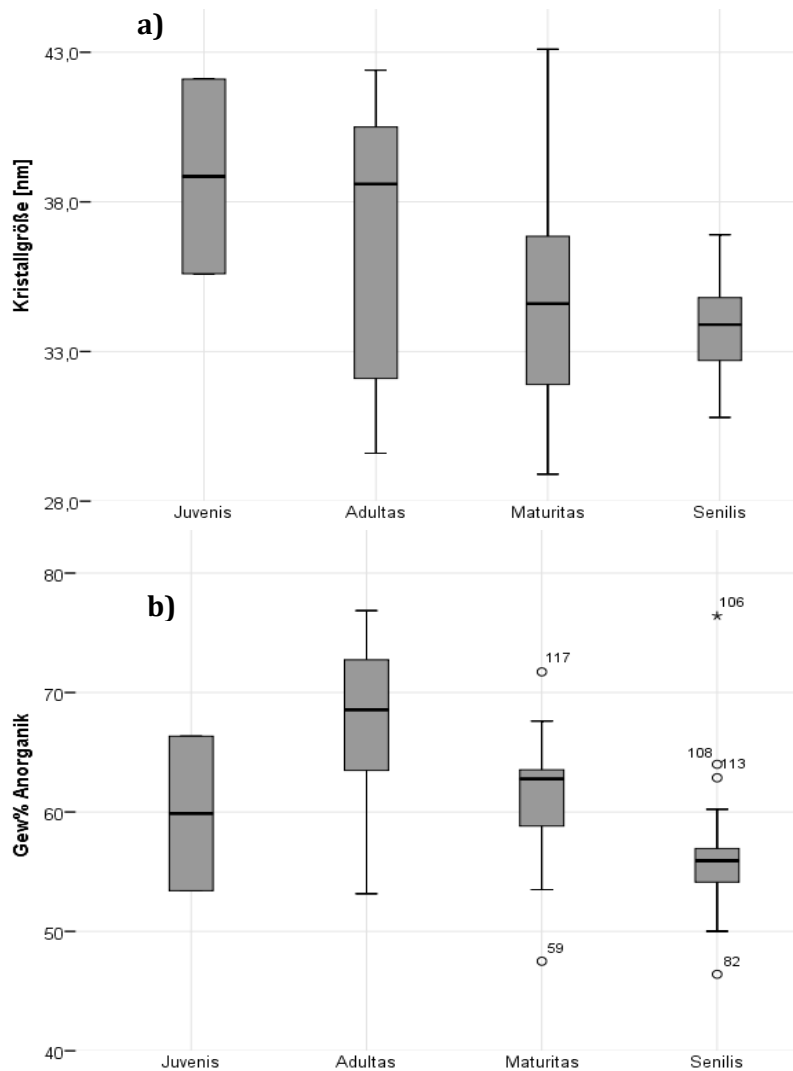
Die statistische Korrelationsanalyse ergab zwar einen hoch signifikanten Zusammenhang zwischen der Individualaltersklasse und dem prozentualen Kohlenstoff- ($R = 0,332$, $T = 0,265$) und Stickstoffgehalt ($R = 0,443$, $T = 0,343$) des Kollagens, jedoch deutete die lineare Regressionsanalyse auf einen relativ geringen Einfluss des Merkmals hin ($R^2 = 0,112$ bzw. $0,174$), und auch die grafische Auswertung ließ keinen zwingenden Trend erkennen. Individuen der Altersklasse *Senilis* schienen jeweils etwas höhere Durchschnittswerte aufzuweisen, jedoch war dies nur eine Tendenz.

Eine signifikante Korrelation konnte weiterhin mit dem molaren C/N-Verhältnis festgestellt werden ($R = -0,251$, $T = -0,197$), wobei auch hier die Knochen seniler Individuen lediglich tendenziell niedrigere Durchschnittswerte aufwiesen als die Proben aus anderen Altersklassen.

Diese Beobachtungen könnten wiederum auf die ungleiche Verteilung der Altersklassen in den Stichprobenkollektiven zurückzuführen sein. Bei getrennter Auswertung der Stichprobensets konnten die oben beschriebenen statistischen Zusammenhänge nicht bestätigt werden. Weder das Geschlecht noch das Skelettelement, wobei hier wiederum menschliche und tierische Knochen getrennt untersucht wurden, hatten einen Einfluss auf die Ausprägung der analysierten Kollagenparameter.

4.3.3.3 Korrelationen mit den mineralischen Indizes

Das Individualalter zeigte eine statistisch hoch signifikante Korrelation mit der Kristallinität ($R = -0,324$, $T = -0,274$) bzw. der Kristallitgröße ($R = -0,348$, $T = -0,344$) des Knochenminerals. Bei älteren Individuen war die Kristallinität geringer und die Kristallite waren damit kleiner als in den Altersklassen *Juvenis* und *Adultas* (vgl. Abb. 4.63a). Auch das prozentuale Gewicht der anorganischen Knochenfraktion korrelierte hoch signifikant mit dem Alter der Individuen ($R = -0,593$, $T = -0,484$, Abb. 4.65b), obwohl für die organische Komponente kein Zusammenhang festgestellt werden konnte (siehe 4.3.3.2).



Die Altersklasse *Adultas* zeigte hier das höchste anteilige Gewicht der Anorganik des Knochens, *Senilis* das geringste.

Auch die Position der ν_2 -Carbonatbande ($R = -0,500$, $T = -0,373$) sowie das Auftreten der akzessorischen OH-Bande ($R = -0,361$, $T = -0,344$) korrelierten statistisch hoch signifikant mit der Altersklasse. Es fiel auf, dass die $\nu_2\text{CO}_3^{2-}$ -Position bei juvenilen und adulten Individuen durchschnittlich in höheren Wellenzahlenbereichen lag als in den Klassen *Maturitas* und besonders *Senilis* (vgl. Abb. 4.64).

Abb. 4.63 Beobachtete Verteilung der Kristallitgröße des Knochenminerals (a) und des prozentualen Gewichtsanteils der anorganischen Matrix (b) über die Altersklassen.

Die akzessorische OH-Bande in den FTIR-Spektren wurde in älteren Individuen (*Maturitas* und *Senilis*) eher seltener beobachtet als in den Knochen jüngerer Menschen. Es stellt sich jedoch auch hier wiederum die Frage, ob die Beobachtungen nicht eher eine Konsequenz der ungleichen Altersverteilung in den Stichprobenkollektiven sind und tatsächlich weniger von der Altersklasse abhängen.

4. ERGEBNISSE

Die getrennte Analyse der Stichprobenkollektive bestätigte jedoch größtenteils die beobachteten Zusammenhänge, besonders deutlich hinsichtlich der archäologischen Proben, welche ebenso statistisch signifikante Korrelationen zwischen der Altersklasse, der Kristallinität und der Kristallgröße aufwiesen.

Es konnte kein statistischer Zusammenhang zwischen dem Geschlecht der Individuen und den erhobenen

mineralischen Indizes hergestellt werden, und auch hinsichtlich der untersuchten Skelettelemente zeigten sich keine statistischen Korrelationen.

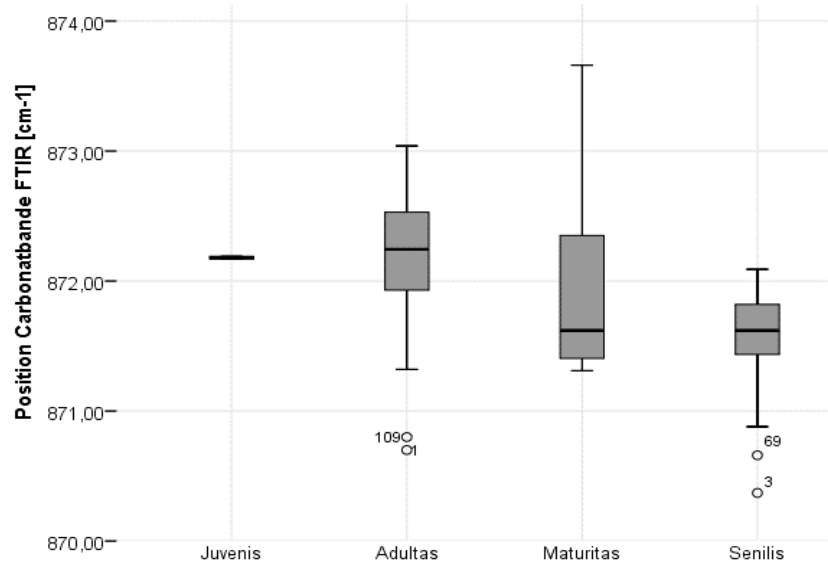


Abb. 4.64 Position der $\nu_2\text{CO}_3^{2-}$ -Bande in den verschiedenen untersuchten Altersklassen.

4.3.4 Weitere extrinsische Faktoren und makroskopisch beobachtbare Besonderheiten

4.3.4.1 Einfluss von Bekleidung und Särgen auf den Knochenerhalt

Der Erhaltungszustand von mit der Bestattung assoziierten Materialien zeigte eine hoch signifikante Korrelation mit der Liegezeit mit mäßigen Korrelationskoeffizienten ($R = -0,419$, $T = -0,341$), dargestellt in Abb. 4.65. Die Zusammenhangsstärke wird etwas besser ($R = -0,476$, $T = -0,392$), wenn der Sonderfall der Bestattung im Zinksarg aus der Berechnung ausgeklammert wird, da Metall im Erdboden unter normalen Umständen konsequenterweise wesentlich länger haltbar ist als organische Materialien. Die durchschnittliche Erhaltungsdauer von Särgen bzw. Bekleidungsresten betrug 27 Jahre.

Es bestand kein statistisch belegbarer Zusammenhang zwischen dem Erhalt von Särgen bzw. Bekleidungsresten und dem histologischen Index (χ^2 nach Pearson), jedoch war der Prozentsatz von Proben mit beginnendem bakteriellem Angriff bei vollständig vergangenen Särgen oder assoziierten Materialien höher (26 %) als bei deren Erhalt (7 %).

Auch die Eindringtiefe von Huminstoffen in den Knochen zeigte keine statistisch signifikante Korrelation mit dem Erhalt von mit der Bestattung assoziierten Materialien (χ^2 nach Pearson). Bis zu einer Eindringtiefe von 500 μm waren jedoch häufiger solche Knochen betroffen, die noch mit

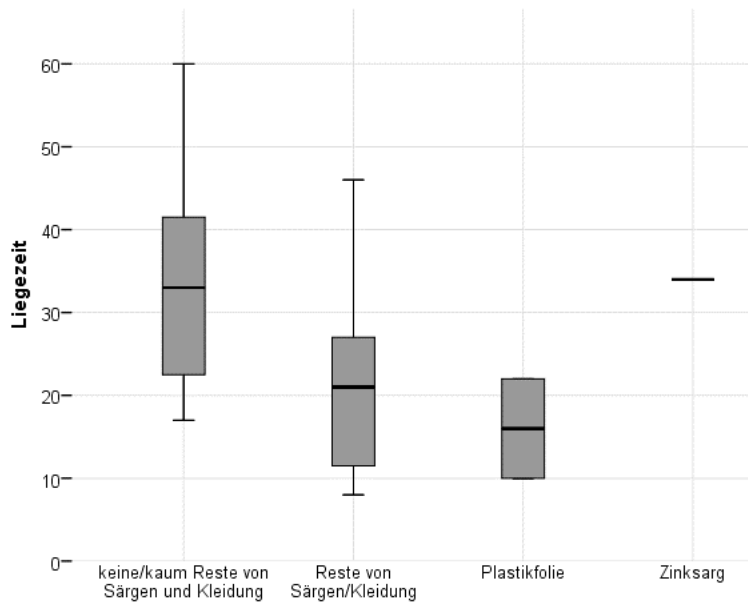


Abb. 4.65 Zusammenhang zwischen mit der Bestattung assoziierten Materialien und der Liegezeit.

Särgen und/oder Bekleidung assoziiert waren. Bei tieferer Infiltration waren Überreste mit und ohne Sarg oder Kleidung gleichermaßen vertreten.

Es bestand kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Pilzsporen bzw. Würmern und dem Erhaltungszustand der Särge bzw. Kleidungsstücke (χ^2 nach Pearson), und auch das Auftreten von periostalen Rekristallisationsphänomenen zeigte keinen Zusammenhang mit assoziierten Materialien. Weiterhin wiesen weder die untersuchten Para-

meter des Kollagens noch die mineralischen Indizes eine statistisch signifikante Korrelation mit dem Erhalt von Särgen oder Bekleidung auf.

4.3.4.2 Makroskopische Besonderheiten der frühdiagenetisch beeinflussten Proben

Eine Besonderheit, welche nur bei den Proben des Westfriedhofs beobachtet wurde, war das Auftreten von Fettwachs in den Knochen, das sich hauptsächlich als saponifiziertes Knochenmark darstellte und meist den kompletten Knochenquerschnitt durchzog. Dies konnte nur bis zu einer Liegezeit von 34 Jahren beobachtet werden und deckte sich damit grob mit der durchschnittlichen Erhaltungsdauer von mit der Bestattung assoziierten Materialien, was sich in der statistisch hoch signifikanten Korrelation mit dem Erhaltungszustand von Särgen bzw. Kleidungsresten widerspiegelt ($R = 0,386$, $T = 0,377$). Fettwachs konnte nicht nachgewiesen werden, wenn keine Sargbestandteile oder Textilien mehr erhalten waren. Sowohl die Knochen, welche aus Gräbern stammten, in denen Plastikfolie gefunden wurde, als auch die Bestattung aus dem Zinksarg wiesen Fettwachsbildung auf.

Jedoch bestand kein statistisch nachweisbarer Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Adipocire und dem bakteriellen Befall, wobei alle Knochen, welche Zeichen von Fettwachs zeigten, eine vollständig unversehrte Mikrostruktur erkennen ließen. Auch Huminstoffe waren in diesen Knochen weniger als 100 μm tief in das Gewebe eingedrungen.

Die Präsenz von Fettwachs hatte keinen statistisch belegbaren Einfluss auf die untersuchten Kollagenparameter, aber hinsichtlich der mineralischen Indizes konnte ein signifikanter Zusammenhang mit dem Verhältnis von C/P nachgewiesen werden, wobei die Korrelationskoeffizienten nur schwach waren ($R = 0,282$, $T = 0,244$).

4.3.4.3 Taphonomische Besonderheiten der unbestatteten tierischen Vergleichsproben

Die Überreste der unbestatteten Rehkadaver zeigten im Zuge des Taphonomieverlaufs einige Besonderheiten, welche bei den bestatteten Knochen nicht beobachtet werden konnten und auf die Deposition an der Oberfläche zurückzuführen sind. Dabei handelte es sich um die Präsenz von Maden in der Markhöhle einiger Knochen, die Veralgung der Knochenoberfläche bzw. Verwitterungserscheinungen der Knochen (vgl. 4.1.2.1).

Hinsichtlich der histologischen Integrität der Proben bestand kein statistisch signifikanter Zusammenhang mit den oben genannten Merkmalen, jedoch trat die Veralgung der Knochenoberfläche nur in Zusammenhang mit einem histologischen Indexwert von 4 auf, welcher beginnenden mikrobiellen Angriff auf die Knochenmikrostruktur reflektiert.

Es bestand eine statistisch signifikante Korrelation zwischen dem Auftreten von Maden in der Markhöhle und dem prozentualen Gewicht der organischen Knochenfraktion ($R = 0,377$, $T = 0,313$), wobei die mit Maden befallenen Knochen eine durchschnittlich niedrigere Gewichtsausbeute aufwiesen als Knochen ohne Maden (knapp 10 Gew % gegenüber 12,5 Gew %). Jedoch war die Anzahl der Fälle zu gering, um valide statistische Aussagen tätigen zu können. Ähnliches galt für den Einfluss von Algenwachstum auf der Knochenoberfläche, welches zumindest nach der Korrelationsanalyse nach Spearman einen signifikanten Zusammenhang mit dem Gewichtsanteil der organischen Knochenfraktion andeutete ($R = 0,363$).

Auffällig war jedoch die statistisch hoch signifikante und stark lineare Korrelation zwischen dem Verwitterungsgrad der Knochen und dem prozentualen Kohlenstoff- ($R = -0,656$, $T = -0,553$) und Stickstoffgehalt ($R = -0,694$, $T = -0,586$) des Kollagens (siehe Abb. 4.66). So zeigten die Knochen mit Anzeichen von Verwitterung deutlich niedrigere Werte für % C ($< 40\%$) und % N ($< 15\%$) als Knochen mit Verwitterungsgrad 0.

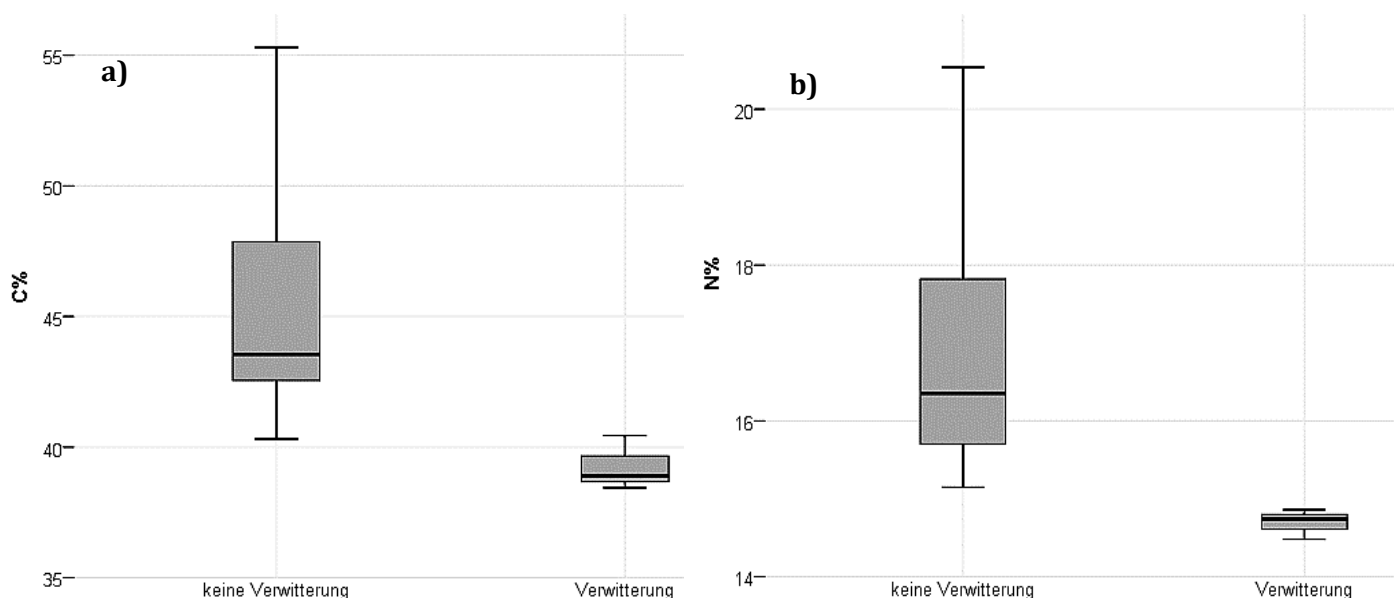


Abb. 4.66 Prozentualer Kohlenstoff- (a) und Stickstoffgehalt (b) in den Rehknochen ohne und mit Anzeichen von Verwitterung.

Es konnte kein statistischer Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Maden in der Markhöhle, der Veralgung der Knochenoberfläche, dem Verwitterungsgrad der Knochen und dem anteiligen Gewicht der anorganischen Knochenfraktion hergestellt werden.

Bei veralgten Knochen wurde zudem ein tendenziell höheres prozentuales Gewicht der Anorganik festgestellt als bei Knochen ohne Algenbewuchs (55 % gegenüber 52 %).

4.4 Implikationen für die Isotopenanalyse aus Kollagen und Mineral

Im folgenden Abschnitt sollte nun zunächst mithilfe statistischer Verfahren überprüft werden, ob und welchen Einfluss die einzelnen getesteten Parameter des Knochenkollagens und -minerals auf die Änderung der Werte der stabilen Isotope von C, N und O des Gewebes hatten.

Hierfür wurden zunächst die Ergebnisse aus den experimentellen Degradationsversuchen auf Zusammenhänge hinsichtlich abweichender Isotopenwerte getestet, da hier die jeweiligen *in vivo* erworbenen und diagenetisch unveränderten Ausgangswerte bekannt waren.

Als „Abweichung“ wurden prinzipiell zunächst alle Verschiebungen ab einer Isotopensignatur von $> 0,8 ‰$ im Vergleich zu den frischen Referenzknochen registriert, da dies deutlich über etwaige Messfehler hinausging. Jedoch zeigten sich die als modifiziert registrierten Isotopenwerte für C, N und O bei den experimentell degradierten Proben meist teils deutlich über einem Wert von $1 ‰$ (vgl. Tabelle 4.25).

Sinnvolle Regressionsanalysen waren hier aufgrund der geringen Fallzahl in den analysierten Kategorien jedoch nicht möglich. Erst im Zuge der Extrapolation der Erkenntnisse auf die *in situ* degradierten Proben wurde anhand logistischer Regressionsmodelle der Einfluss der untersuchten Variablen auf potenzielle Abweichungen in den Isotopendaten analysiert (siehe 5.3.2).

Tabelle 4.25 Zusammenstellung der in den experimentell degradierten Stichprobenkollektiven als diagenetisch modifiziert eingestuften Probenzahlen. Obwohl die meisten Proben Verschiebungen der Isotopensignaturen im Bereich zwischen $1-2 ‰$ aufwiesen, waren auch deutliche Modifikationen erkennbar, welche die Trophiestufenschwelle von $3 ‰$ überschritten. Die Zahlen in Klammern bezeichnen die Gesamtzahl der Proben des Kollektivs mit einer Verschiebung $> 0,8 ‰$.

Degradations-experiment	Verschiebung $\delta^{13}\text{C}_{\text{koll}}$		Verschiebung $\delta^{15}\text{N}$		Verschiebung $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$		Verschiebung $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$	
	$> 1 ‰$	$> 3 ‰$	$> 1 ‰$	$> 3 ‰$	$> 1 ‰$	$> 3 ‰$	$> 1 ‰$	$> 3 ‰$
Hydrolytisch	7 (7)	3 (7)	4 (13)	7 (13)	0	0	15 (33)	18 (33)
Bakteriell	0	0	0	0	0	0	7 (8)	0 (8)
Rehknochen	2 (2)	0 (2)	3 (3)	0 (3)	1 (1)	0	7 (8)	0 (8)

4.4.1 Analyse der stabilen Isotope von C und N aus der organischen Knochenfraktion

Tabelle 4.26 fasst die statistisch berechneten Korrelationen zwischen allen erhobenen Parametern, welche einen Einfluss auf die isotopische Zusammensetzung des Knochenkollagens haben könnten, und den in den experimentellen Degradationsversuchen beobachteten Abweichungen in den Isotopenverhältnissen der Elemente Kohlenstoff und Stickstoff in einer Übersicht zusammen.

Tabelle 4.26 Zusammenfassung der mit der Abweichung der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte statistisch korrelierten analysierten Merkmale der experimentell degradierten Proben und unbestatteten Rehknochen (nach Spearman und Kendall). Hoch signifikante Zusammenhänge sind mit „**“ gekennzeichnet, signifikante mit „*“.

	Abweichungen $\delta^{13}\text{C}$
Gew % Organik	$R = -0,495^{**}$, $T = -0,407^{**}$
% C	$R = -0,300^{*}$, $T = -0,247^{*}$
% N	$R = -0,269^{*}$, $T = -0,222^{*}$
C/N	$R = -0,252^{*}$, $T = -0,209^{*}$
CI	$R = 0,580^{**}$, $T = 0,505^{**}$
Kristallgröße	$R = 0,562^{**}$, $T = 0,465^{**}$
C/P	$R = -0,437^{**}$, $T = -0,364^{**}$
akzessorische OH-Bande (FTIR)	$R = -0,672^{**}$, $T = -0,672^{**}$
Position $\nu_2\text{CO}_3^{2-}$ (FTIR)	$R = 0,408^{**}$, $T = 0,337^{**}$
FWHM $\nu_1\text{PO}_4^{3-}$ (Raman)	$R = -0,320^{*}$, $T = -0,279^{*}$
Gew % Anorganik	$R = 0,359^{*}$, $T = 0,295^{*}$

Es fiel auf, dass die analysierten mineralischen Parameter teilweise stärkere Zusammenhänge mit Abweichungen des $\delta^{13}\text{C}$ -Werts aufwiesen als die Organik-Merkmale. So zeigte das Auftreten der akzessorischen OH-Bande in den FTIR-Spektren die stärkste hoch signifikante Korrelation mit Abweichungen des Isotopenverhältnisses des Kohlenstoffs aus dem Kollagen, gefolgt der Kristallinität bzw. Kristallitgröße des Knochenminerals.

Der schwächste Zusammenhang wurde zwischen Veränderungen der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte und dem molaren C/N-Verhältnis sowie dem prozentualen Stickstoffgehalt des Kollagens festgestellt. Jedoch war auch die Korrelation mit dem prozentualen Kohlenstoffanteil nicht sonderlich gut.

Hinsichtlich der von den unveränderten Ausgangsproben abweichenden $\delta^{15}\text{N}$ -Werte des Knochenkollagens wurden zwar weniger statistisch signifikante Korrelationen mit den getesteten organischen und anorganischen Parametern gefunden als für Veränderungen des Verhältnisses der stabilen Kohlenstoffisotope, jedoch konnte auch hier die stärkste Korrelation mit dem Auftreten der zusätzlichen OH-Bande im FTIR-Spektrum bei 3600 cm^{-1} bestätigt werden (vgl. Tabelle 4.27). Im Unterschied zu den Veränderungen des $\delta^{13}\text{C}$ -Werts übten hier auch der prozentuale Kohlenstoff- und Stickstoffgehalt des Kollagens einen starken Einfluss auf das Verhältnis der stabilen Stickstoffisotope aus.

So konnten veränderte Stickstoff-Isotopenwerte bei durchschnittlich 20 % C-Gehalt des Kollagens beobachtet werden, wobei der Kohlenstoffanteil des Kollagens bei veränderten $\delta^{15}\text{N}$ -Werten zwischen 5 % und 55 % schwankte. Unveränderte Isotopenwerte wurden bei einem Kohlenstoffanteil zwischen 30 % und 53 % festgestellt. Hinsichtlich des Stickstoffanteils wurden Verschiebungen des $\delta^{15}\text{N}$ -Werts bei durchschnittlich 13 % N beobachtet, wobei die Spanne von 2 % bis 21 %

reichte. Keine Veränderung des Isotopenverhältnisses wurde in einem Bereich zwischen 13 % und 20 % Stickstoffgehalt des Kollagens konstatiert.

Tabelle 4.27 Zusammenfassung der mit der Abweichung der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte statistisch korrelierten analysierten Merkmale der experimentell degradierten Proben und unbestatteten Rehknochen (nach Spearman und Kendall). Hoch signifikante Zusammenhänge sind mit „**“ gekennzeichnet.

	Abweichungen $\delta^{15}\text{N}$
Gew % Organik	$R = -0,462^{**}$, $T = -0,380^{**}$
% C	$R = -0,543^{**}$, $T = -0,447^{**}$
% N	$R = -0,513^{**}$, $T = -0,422^{**}$
C/N	$R = -0,395^{**}$, $T = -0,328^{**}$
Kollagenqualität (ASA)	$R = 0,392^{**}$, $T = 0,376^{**}$
CI	$R = 0,534^{**}$, $T = 0,464^{**}$
Kristallgröße	$R = 0,526^{**}$, $T = 0,435^{**}$
C/P	$R = -0,537^{**}$, $T = -0,447^{**}$
akzessorische OH-Bande (FTIR)	$R = 0,551^{**}$, $T = 0,551^{**}$
Gew % Anorganik	$R = 0,363^{**}$, $T = 0,299^{**}$

Interessant war auch die Beurteilung des prozentualen Anteils der anorganischen Fraktion am Gesamtgewicht des Knochens. 78 % der Proben mit einer Gewichtsausbeute < 1 % Organik zeigten eine Abweichung der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte, und bei mehr als 1 % Gewichtsausbeute wiesen 89 % der Proben keine Änderung des $\delta^{13}\text{C}$ -Wertes auf. Hinsichtlich der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte zeigten sogar 100 % der Proben

mit einem anteiligen Kollagengewicht < 1 % eine Verschiebung des Isotopenverhältnisses während die Proben mit höherer Gewichtsausbeute in 81 % der Fälle keine Abweichung der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte aufwiesen.

Die Proben, bei welchen eine zusätzliche OH-Bande bei ca. 3600 cm^{-1} im FTIR-Spektrum detektiert wurde, zeigten mehrheitlich sowohl abweichende $\delta^{13}\text{C}$ - als auch $\delta^{15}\text{N}$ -Werte (siehe Abb. 4.67), wobei das schwere Stickstoffisotop um mehrere Promille ab- und das schwere Kohlenstoffisotop eher angereichert waren. Auch die Kristallinität bzw. die Kristallitgröße der Proben standen sowohl mit Verschiebungen des Kohlenstoff- als auch Stickstoffisotopenverhältnisses im Zusammenhang. So wurden abweichenden Isotopenwerte mehrheitlich bei Kristallinitätswerten > 2,8 bzw. Kristallen > 40 nm registriert, wobei diese auch, wenngleich weniger häufig, bei geringerer Kristallinität auftraten.

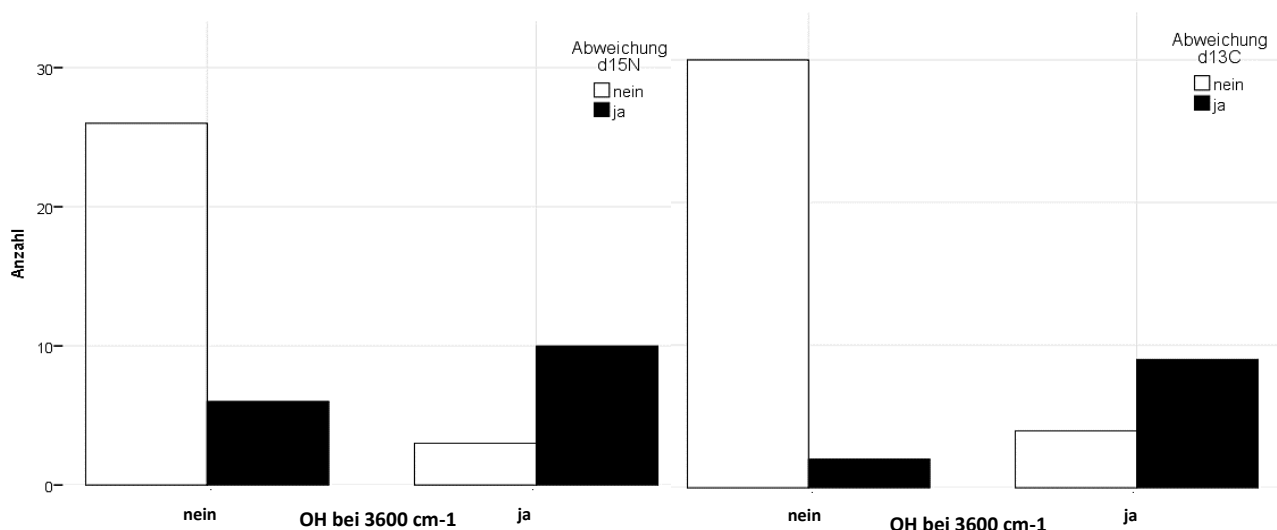


Abb. 4.67 Zusammenhang zwischen dem Auftreten der akzessorischen OH-Bande in den FTIR-Spektren und Verschiebungen der Isotopenverhältnisse von Kohlenstoff und Sauerstoff.

Fast alle im Kollagen vorkommenden Aminosäuren zeigten eine statistisch signifikante Korrelation mit den Veränderungen der $\delta^{13}\text{C}$ - und $\delta^{15}\text{N}$ -Werte, lediglich für tyr ($\delta^{13}\text{C}$ und $\delta^{15}\text{N}$) und OH-lys ($\delta^{15}\text{N}$) konnte kein Zusammenhang hergestellt werden. Die stärkste Korrelation mit Abweichungen der Isotopenwerte wiesen leu und his ($\delta^{15}\text{N}$, $R > 0,600$) bzw. asp, ser, glu, leu und his ($\delta^{13}\text{C}$, $R > 0,400$) auf, wobei das Verhältnis jeweils invers war.

4.4.2 Analyse der stabilen Isotope von C und O aus der mineralischen Matrix

Die Korrelationsanalyse zwischen den untersuchten organischen und anorganischen Parametern der experimentell degradierten Proben und unbestatteten Rehknochen ergab hinsichtlich der Abweichungen der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte aus der strukturellen Carbonatfraktion nur wenige statistische Zusammenhänge, da das Verhältnis der stabilen Kohlenstoffisotope in den experimentell degradierten Proben generell nicht allzu starke Schwankungen aufwies und die quantitative Kontamination durch kohlenstoffhaltige Fremdmineralphasen ohne Bodenlagerung ausgeschlossen werden kann.

So konnten lediglich schwach signifikante Korrelationen zwischen den veränderten $\delta^{13}\text{C}$ -Werten, dem prozentualen Gewicht der anorganischen Knochenfraktion sowie auch dem prozentualen Kohlenstoff- und Stickstoffanteil des Kollagens nachgewiesen werden. Allerdings waren die Korrelationskoeffizienten mit $R < 0,200$ sehr gering.

Hinsichtlich der $\delta^{18}\text{O}$ -Werte aus dem Knochencarbonat zeigten sich deutlichere Zusammenhänge. Die stärkste Korrelation wies die Position der $\nu_2\text{CO}_3^{2-}$ -Schwingung auf, welche bei abweichenden $\delta^{18}\text{O}$ -Werten eher in niedrigeren Wellenzahlenbereichen lokalisiert war ($< 871,5$), während das Auftreten der akzessorischen OH-Bande im FTIR-Spektrum, welche mit abweichenden Isotopen-

werten der organischen Fraktion in Verbindung gebracht werden konnte, keine signifikante Assoziation mit Verschiebungen des $\delta^{18}\text{O}$ -Wertes zeigte.

Aber auch die organischen Parameter % N, % C und Kollagenqualität korrelierten statistisch hoch signifikant mit auffälligen Sauerstoff-Isotopenwerten (siehe Tabelle 4.28). Keinerlei Verschiebungen des Sauerstoff-Isotopenverhältnisses konnten nur bei sehr guter Kollagenqualität beobachtet werden.

Tabelle 4.28 Zusammenfassung der mit der Abweichung der $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ -Werte statistisch korrelierten analysierten Merkmale der experimentell degradierten Proben und unbestatteten Rehknochen (nach Spearman und Kendall). Hoch signifikante Zusammenhänge sind mit „**“ gekennzeichnet.

	Abweichungen $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$
Skelettelement	$R = -0,393^{**}$, $T = -0,380^{**}$
Gew % Organik	$R = -0,308^{*}$, $T = -0,254^{*}$
% C	$R = -0,425^{**}$, $T = 0,350^{**}$
% N	$R = -0,481^{**}$, $T = -0,396^{**}$
Kollagenqualität (ASA)	$R = 0,455^{**}$, $T = 0,436^{**}$
C/P	$R = -0,385^{**}$, $T = -0,321^{*}$
Position $\nu_2\text{-CO}_3^{2-}$ (FTIR)	$R = -0,488^{**}$, $T = -0,403^{**}$
Position $\nu_1\text{-PO}_4^{3-}$ (Raman)	$R = 0,291^{*}$, $T = 0,258^{*}$
FWHM $\nu_1\text{-PO}_4^{3-}$ (Raman)	$R = -0,388^{**}$, $T = -0,339^{**}$
Gew % Anorganik	$R = 0,418^{**}$, $T = 0,344^{**}$

5. Diskussion

Nach der Beurteilung deskriptiver diagenetischer Abbaumechanismen unter den verschiedenen untersuchten Bedingungen der experimentellen und *in situ* degradierten Proben (5.1), welche sich auf die *in vivo* erworbene Isotopensignatur auswirken könnten, wurden mithilfe der gewonnenen Erkenntnisse Modelle erstellt, um die jeweils angreifenden Mechanismen der Knochendegradation und deren Einfluss auf die isotopische Zusammensetzung des Gewebes zusammenzufassen (5.2). In einem abschließenden Kapitel wurde anschließend die Eignung der getesteten Qualitätsmarker zur Identifizierung von Veränderungen der isotopischen Integrität der organischen und anorganischen Knochenfraktion diskutiert und abschließend beurteilt (5.3).

5.1 Dekompositionsmerkmale auf nano-, mikro- und makrostruktureller Ebene

5.1.1 Einfluss der Bodenbeschaffenheit auf den Knochenerhalt

Der am häufigsten vertretene Bodentyp der untersuchten Proben des Westfriedhofs zeichnete sich durch eine dunkle, rötlich-braune Färbung (2.5YR/3/3 und 2.5YR/3/2), eine lockere bis weiche Konsistenz und einen hohen Sandanteil (sandiger Lehm, sandiger Tonlehm) aus. Die Farbe des Bodens wird durch den Gehalt an organischen Bestandteilen, die Drainagebedingungen, den Verwitterungsgrad und damit auch durch den Mineralgehalt bestimmt. Dunkle Bodenfarben weisen in der Regel auf einen hohen Anteil organischer Komponenten und gute Drainageeigenschaften hin, welche für einen ungehinderten Wasser- und Gasaustausch sorgen (Sugita und Marumo 1996, Fitzpatrick 2008) und damit dekompositionsfördernd wirken (1.3.3.1). Auch die Konsistenz und Textur waren im Fall des Westfriedhofs indikativ für gute Drainageeigenschaften des Bodens,

welche durch die kontinuierliche Neubelegung der Gräber und die daraus folgenden regelmäßigen Durchmischung und Auflockerung des Sediments noch befördert wurde. Nur in wenigen Fällen fanden sich auch hellere Böden, welche jedoch als Sand bzw. sandiger Lehm angesprochen wurden und dadurch ebenfalls eine gute Durchlässigkeit für Flüssigkeiten und Gase aufwiesen.

Die zudem mit 10 Jahren sehr niedrige minimale Ruhezeit, welche auf dem Westfriedhof für Körpergräber vorgeschrieben ist (siehe 2.1), deutet weiterhin auf die vorteilhaften Eigenschaften des Bodens für eine beschleunigte Dekomposition hin. Dennoch offenbarten nur die hellen Bodentypen einen statistisch signifikanten Zusammenhang mit dem Knochenerhalt. Es zeigte sich jedoch, dass die Knochen aus den dunkleren Böden gar nicht (2.5YR/3/1 und 2.5YR/3/3) oder nur marginal (2.5YR/3/2) von bakteriellem Angriff betroffen waren, obwohl diese die häufigste Verteilung innerhalb des Probenkollektivs aufwiesen. Die deutlichsten Anzeichen bakteriellen Angriffs ließen sich in den Knochen aus hellerem Sediment (2.5YR/6/3 und 2.5YR/6/4) finden. Je dunkler die Farbe des Bodens ist, desto höher ist dessen Gehalt an Huminstoffen, welche durch ihre antibakterielle und fungizide Wirkung (Ansorg und Rochus 1978) den Knochen vor Biodegradation schützen und somit den bakteriellen Angriff auf in diesen Böden bestatteten Knochen verzögern können. Es wurde jedoch kein Zusammenhang zwischen der Bodenfarbe und der Eindringtiefe von Huminstoffen in den Knochen festgestellt. Da in vielen Fällen durch den weitgehenden Erhalt der Särge und Bekleidung der direkte Kontakt zwischen Knochen und umgebendem Erdreich nicht gegeben war, dürfte die Exposition hauptsächlich durch im Sickerwasser gelöste Huminstoffe aus dem Boden (Turner-Walker 2008) stattgefunden haben, welche zu einer kontinuierlichen und gleichmäßigen Durchdringung der Überreste führte. Der auffällig dunkel gefärbte periostale Bereich mancher Proben mit hoher Eindringtiefe in den Knochen, welcher in der Regel erst nach der durchschnittlichen Erhaltungsdauer der Särge beobachtet wurde, könnte der Dekomposition des Holzes in Zusammenhang stehen (siehe auch 5.1.2.2, Seite 186 f.). Außerdem wurde beobachtet, dass bevorzugt die zahlreich festgestellten periostalen Strukturauflösungen der Knochen durch Gerbstoffe angefärbt waren, da diese eine geringere Dichte aufwiesen als der sekundär osteonale Knochen der Compacta.

Die gemessenen pH-Werte der Bodenproben ließen sich weder einer bestimmten Farbe noch Struktur oder Konsistenz zuordnen. Dies ist zunächst überraschend, da für dunkle und damit stark huminstoffhaltige Böden ein saurerer pH-Wert erwartet wird als für hellere Böden. Tatsächlich wurde aber der mit $\text{pH} = 7,95$ höchste Median bei dem dunkelsten Bodentyp (2.5YR/3/1) gemessen, der niedrigste Median, $\text{pH} = 7,15$, war mit dem hellsten Sediment (2.5YR/6/3) assoziiert. Die Varianz und damit der Überschneidungsbereich der einzelnen Bodentypen waren jedoch sehr hoch, so dass eine eindeutige Zuordnung bestimmter pH-Wertbereiche zu den Bodenparametern nicht möglich war.

Der pH-Wert des Bodens wird von einer Reihe von Einflussfaktoren bestimmt. Neben dem Anteil von Huminstoffen determiniert auch der Gehalt löslichen Carbonats, ob ein Boden einen sauren oder alkalischen pH-Wert aufweist (Strawn et al. 2015). Der in den Proben bestimmte Carbonatgehalt zeigte jedoch keinen klaren Zusammenhang mit dem pH-Wert des Bodens. Ein höherer Gehalt an Calciumcarbonat im Boden führt zwar zu einer Alkalisierung des Milieus (Strawn et al. 2015), aber dies deckte sich nicht mit den Ergebnissen. In den sauren Böden ($\text{pH} < 7,0$) konnten

ausschließlich mäßige bis hohe Carbonatkonzentrationen nachgewiesen werden, jedoch war die Varianz des Carbonatgehalts bei höheren pH-Werten sehr hoch.

Der pH-Wert im Bereich einer Bestattung kann jedoch auch noch von weiteren Faktoren beeinflusst werden, welche besonders auf stark genutzten Begräbnisstätten deutliche Auswirkungen auf das Bodenmilieu haben können. So wird durch den Zersetzungsprozess des Weichgewebes einer Leiche der pH-Wert des Erdreichs unterhalb der Bestattung stark verändert (vgl. 1.3.3.1). Neben der Ansäuerung des Milieus besonders durch flüchtige Fettsäuren, Thiole und Mercaptane (Ubelaker 1997), was wiederum zu einer lokalen Anlösung des Carbonats im Boden und weiterer Ansäuerung führt, kann auch bei unvollständiger Nitrifizierung eine erhebliche Anreicherung von Ammoniak und damit eine Verschiebung in den alkalischen Bereich stattfinden. Dies ist besonders unter anaeroben Bedingungen zu beobachten (Dent et al. 2004, Sponberg und Becks 2000). Prangnell und McGowan (2009) diskutieren weiterhin einen Einfluss des jeweiligen Beschattungsgrades und damit der durchschnittlichen Temperatur des Grabes auf den pH-Wert des Bodens, jedoch konnte in der vorliegenden Arbeit kein Zusammenhang zwischen der Vegetation und dem pH-Wert hergestellt werden (siehe Abb. 5.1). Vermutlich gilt dies nur im Zusammenhang mit flacheren Gräbern, da die Temperatur in der Erde ab einer gewissen Tiefe als recht konstant gilt (Jarvis 1997, Mant 1987).

Bestattungsplätze werden, insbesondere an Orten mit hohem Belegungsdruck, bewusst so ausgewählt, dass eine möglichst rasche Dekomposition der Überreste gewährleistet ist und dauerhafter Erhalt verhindert wird (Fiedler und Graw 2003), weshalb die Resultate der Bodenanalyse wenig überraschend waren. Mit zunehmendem Lehm- oder Tonanteil steigt das Risiko der Fettwachsbildung, da die Wasserundurchlässigkeit der Sedimente die anaerobe Dekomposition fördert (Schoenen und Schoenen 2013). Dennoch wurden innerhalb des Probenkollektivs sechs Fälle von mehr oder weniger deutlicher Fettwachsbildung beobachtet, welche jedoch eher mit der guten Erhaltung der Särge, der Bekleidung sowie der Assoziation von Plastikfolie mit der Bestattung in Zusammenhang standen (siehe 4.3.4.1) da nur drei Proben in tonhaltigen Sedimenten (Tonlehm und mittlerer Ton) gefunden wurden.

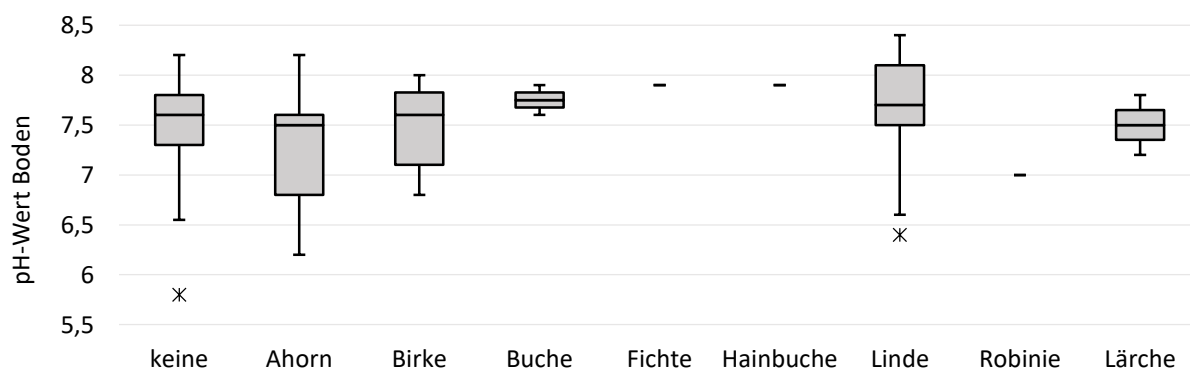


Abb. 5.1 Gemessener pH-Wert aus dem Bestattungsbereich und mit dem Grab assoziierte, dominierende Vegetation. Die Art des Baumbestandes bzw. des Beschattungsgrades schien keinen Einfluss auf den pH-Wert des Bodens auszuüben. Große Bäume werden häufig auf Friedhöfen gepflanzt, um das kontaminierte Grundwasser abzusaugen (Üçisik und Rushbrook 1998).

Daher dürfte im Hinblick auf die besondere Phase der Frühdiagenese zunächst eher die Dekompositionsgeschwindigkeit der Särge entscheidend für den Erhalt des Skelettmaterials sein, welche wiederum nicht nur von den Bodenparametern beeinflusst wird (Blanchette 2000), sondern auch von der Qualität und Beschaffenheit des Holzes sowie eventuell verwendeten Imprägnierungen (Mininni et al. 2007, Prangnell und McGowan 2009).

5.1.2 Bewertung makro- und mikrostruktureller Diagenesemerkmale

5.1.2.1 Makroskopische Besonderheiten der Dekomposition

Taphonomieversuch Bayerischer Wald – Besonderheiten der Dekomposition ohne Bestattung

Es zeigte sich, dass die Weichgewebsdekomposition der im Nationalpark Bayerischer Wald ausgelegten Rehkadaver bereits nach zwei bis drei Wochen nahezu vollständig abgeschlossen war, obwohl es mit einer durchschnittlichen Tagestemperatur zwischen 12,9° C und 13,8° C relativ kühl war. Dies deckte sich weitgehend mit vergleichbaren Studien zur Dekomposition von unbestatteten Kadavern (Anderson und VanLaerhoven 1996, Grassberger und Frank 2004, Matuszewski et al. 2008, Melis et al. 2004). Die Wahl der Auslegungsorte der Kadaver, welche ausnahmslos aus feuchten Totholzbeständen oder lichtem Wald bestanden, erwies sich als förderlich für eine rasche Dekomposition. Feuchter Boden sowie ein geringer Beschattungsgrad durch Bäume gelten als optimale Bedingungen für die Aktivität aasbesiedelnder Insekten, während trockene Böden und/oder zu starke Beschattung die Dekomposition verlangsamen (Matuszewski et al. 2008). Der zu Beginn der Dekomposition moderate, aber gleichmäßige Niederschlag war weiterhin förderlich für die Besiedelung mit Insekten. Zu starker Regen schränkt die Aktivität von nekrophagen Arthropoden ein, da so die Eiablage auf dem Kadaver erschwert wird (Galloway 1997, Komar 1998, Mann et al. 1990).

Es konnte weiterhin kein Einfluss des Auftretens von penetrativen Traumata auf die Dekompositionsrate beobachtet werden. Zwar wurde bei jedem Individuum zur Simulation eines Luchsrisses die Oberschenkelmuskulatur intentionell angeschnitten sowie ein Metatarsus entfernt, jedoch wiesen lediglich zwei der zehn Rehe zum Zeitpunkt der Auslegung keine sonstigen äußerlich sichtbaren Verletzungen auf (Reh 3, Reh 9), die übrigen Individuen zeigten zum Teil erhebliche perimortale Traumata. Der rapideste Weichgewebsverlust war jedoch bei Reh 9 zu beobachten, während sich der Kadaver von Reh 10, welcher eine etwa handtellergroße Wunde im Thoraxbereich infolge des Geschossaustritts aufwies, am längsten hielt. Die in der Literatur verbreiteten Meinungen zur Rolle von penetrativen Traumata im Hinblick auf die Beschleunigung der Dekomposition sind gespalten. So sahen beispielsweise Campobasso et al. (2001), Vass et al. (2002) sowie Mann et al. (1990) in ihren Studien eine durch perimortale Verletzungen geförderte Dekompositionsrate, während Kelly (2006) sowie Cross und Simmons (2010) keinen Zusammenhang erkannten. Die bevorzugte Eiablage von Fliegen auf einem Kadaver scheint sich nach Pinheiro

(2006) dabei auf die natürlichen Körperöffnungen zu konzentrieren. Die Beobachtungen der taphonomischen Vorgänge in Bezug auf die Rehkadaver unterstützen diese These³⁸.

Nach dem Abschluss der Skelettierung zeigten die Knochen mit einer Ausnahme erst nach dem zweiten Beprobungsintervall (nach ca. 6 Monaten) erste Anzeichen von Verwitterung, welche sich in longitudinalen Rissen und Algenbewuchs äußerte. Tappen (1994) führte das Auftreten von Verwitterungsrissen generell auf das Schrumpfen der Kompositstruktur zurück, welches durch ein Dehydrieren des Kollagens hervorgerufen wird. Dies ist eine Folge des wiederholten Erwärmens und Abkühlens, Befeuchtens und Austrocknens des Gewebes, welches ungeschützt der Witterung ausgesetzt ist. Dabei sind die Dicke und Dichte des Knochens entscheidend, und somit soll die physische Verfassung des Individuums zu Lebzeiten die Bildung von Verwitterungsrissen beeinflussen (Behrensmeyer 1978). Dies stimmte in zwei von drei Individuen mit der Beobachtung histologisch festgestellter vermehrter Knochenresorption überein (Reh 1 und Reh 6, siehe 4.1.2.2). Die Knochen des dritten Individuums mit Osteoporose (Reh 8) zeigten jedoch keine Verwitterungsrisse, dafür jedoch zwei weitere Kadaver, bei welchen keine Knochenresorption nachgewiesen wurde. Eventuell war hier die absolute Sonnenexposition höher und führte so zu einem schnelleren Austrocknen des Knochens.

Maden in der Markhöhle der Knochen wurden sowohl nach dem ersten (ca. 3 Monate nach der Auslegung) als auch nach dem zweiten Beprobungsintervall (ca. 6 Monate nach der Auslegung) gefunden. Da die meisten der befallenen Knochen mechanisch unbeschädigt waren, konnten die Maden, welche von Dr. Frank Reckel vom Bayerischen Landeskriminalamt als *Stearibia nigriceps* und *Liopiophila varipes* aus der Familie der *Piophilidae* (Käsefliegen) bestimmt wurden (Reckel et al. 2012), nur über die im Querschnitt durchschnittlich 0,8 – 1,2 mm messenden *Foramina nutritia* in die Knochen eingedrungen sein. Ähnliche Fälle sind bislang kaum veröffentlicht. Lediglich Walcher (1933) bezieht sich in seiner Studie auf einen vergleichbaren Madenfund im unbeschädigten Oberarmknochen eines im Gebirgswald (800-900 m ü.N.N) aufgefundenen 20-jährigen männlichen Suizidopfers. Die Leiche lag 100 Tage im Freien, zwischen Juni und September, womit die Umgebungsparameter stark den Gegebenheiten im Nationalpark Bayerischer Wald ähneln.

Piophiliden sind ein typischer Besiedler frei zugänglicher Kadaver und sind mit den fortgeschrittenen Verwesungsstadien assoziiert. Sie werden in der Regel drei bis sechs Monate *postmortem*

³⁸ Im Übrigen zeigte sich, dass die Aktivität von aasfressenden Vertebraten eine eher untergeordnete Rolle bei der Dekomposition der Kadaver spielte. Reh 3 war das einzige Individuum, bei welchem die Wildkamera keine Aasfresseraktivitäten aufzeichnen konnte. Jedoch war hier die Rate des Fleischverlusts gegenüber den meisten der übrigen Kadaver, deren Fleisch von nekrophagen Wirbeltieren genutzt wurde, nicht signifikant erniedrigt. Es ist bekannt, dass die an der Zersetzung toter Materie beteiligten Mikroorganismen Toxine freisetzen können, welche das Fleisch sogar für Aasfresser ungenießbar machen und diese damit teilweise gezielt abschrecken (Haagsma 1991, Janzen 1977). Auch in Hinblick auf die enorm hohe Madenkonkurrenz wurde der Gesamtbeitrag der aasfressenden Wirbeltiere am Masseverlust während der Weichgewebsdekomposition daher als marginal eingeschätzt. Die Unterschiede in der Dekompositionsrate können eventuell auf den physiologischen Zustand der Individuen zum Zeitpunkt des Todes zurückgeführt werden (vgl. Pinheiro 2006), welcher im Nachhinein jedoch nicht mehr rekonstruiert werden kann.

auf Leichen angetroffen und sind damit ein wichtiges Hilfsmittel für die Schätzung des postmortalen Intervalls (Smith 1986). Käsefliegen werden generell von den flüchtigen Abbauprodukten von Fettsäuren angezogen und können häufig mit dem Auftreten von Fettwachs in Verbindung gebracht werden (Grassberger und Frank 2004, Turchetto et al. 2001). Das hauptsächlich aus Palmitin- und Oleinsäure bestehende Knochenmark (Deshimaru et al. 2005) ist somit eine wertvolle Nahrungsquelle für die Larven, jedoch können die aus den Puppen schlüpfenden Fliegen den Knochen nicht mehr verlassen, sofern er nicht aufgebrochen wird.

Besonderheiten der Frühdiagenese bei Erdbestattung

Die in vielen Fällen gute Erhaltung von Särgen, Sargauskleidungen sowie persönlichen Bekleidungsgegenständen, welche oft aus synthetischen und damit degradationsresistenten Materialien bestanden, entsprach den Erwartungen für einen modernen Friedhof. Fiedler et al. (2012) gehen sogar so weit, Friedhöfe als spezielle Form der Mülldeponie zu bezeichnen, da dort nicht nur teils schwer oder nahezu nicht verrottbares Material wie metallene Beschläge und medizinische Hilfsmittel wie Schrittmacher oder Endoprothesen in die Erde eingebracht werden, sondern auch diverse Schwermetalle, Antibiotika und Rückstände von Einbalsamierungsflüssigkeit, welche größtenteils aus Formaldehyd und Methanol besteht (Dodge Chemicals, www.dodgeco.com), das Erdreich belasten. Dies hat auch fundamentale Auswirkungen auf die Dekomposition der bestatteten Körper. Es zeigte sich, dass insbesondere die Verwendung von verrottbarer Plastikfolie, welche in Deutschland bis in die 90er Jahre (mündliche Mitteilung der Grabmacher des Westfriedhofs) regelmäßig zur Auskleidung von Särgen verwendet wurde, um einen Austritt von Flüssigkeiten zu unterbinden, ausgesprochen dekompositionsverzögernd wirkte, da dies zu einer lokal begrenzten oder auch ausgedehnten Bildung von Fettwachs führte.

Nicht nur die Verwendung von Plastikfolie förderte die Bildung von Adipocire. Forbes et al. (2005a) zeigten in ihrer experimentellen Studie, dass die Art und Erhaltung von Bekleidung einen deutlichen Einfluss auf die Verseifung von Körperfetten hat, da sie sich mit Flüssigkeit vollsaugen und damit ein feuchtes Milieu aufrechterhalten sowie anoxische Bedingungen schaffen (siehe auch Mant 1987, Fiedler und Graw 2003).

Särge sollen zwar generell der Bildung von Fettwachs entgegenwirken (Forbes et al. 2005a, b), jedoch muss ein ungehinderter Abfluss von Flüssigkeiten gewährleistet sein, welcher häufig durch die Auskleidung der Särge mit Textilien bzw. Beschichtungen des Holzes verhindert wird. Der mit einem Individuum der vorliegenden Studie assoziierte Zinksarg förderte ebenfalls die Bildung von Adipocire, da die aus der Dekomposition entstehenden Flüssigkeiten sowie später aus dem Umgebungsmilieu eingedrungenes Wasser nicht ungehindert ablaufen konnten (vgl. 1.3, Seite 17). Bei vollständig vergangenen Särgen und/oder Bekleidungsresten konnte jedoch in keinem Fall Fettwachsbildung an den Überresten nachgewiesen werden (siehe 4.3.4.2).

Besonders stark betroffen von Saponifikation war das Knochenmark der Langknochen, was bisher lediglich durch Henderson et al. (2013) für Bestattungen aus dem 19. Jahrhundert dokumentiert ist. Das Knochenmark ist deshalb besonders anfällig für Fettwachsbildung, da in ohnehin

feuchtem Milieu das Innere der Knochen als abgeschlossenes Kompartiment neben der hohen Konzentration reiner Fettsäuren ideale Voraussetzungen für den weiter oben beschriebenen Prozess der Veresterung von Fettsäuren bietet.

In einem Fall (WF 10) war das Knochenmark nicht als Fettwachs erhalten, sondern hatte sich in eine schwarze, erdige Masse umgewandelt. Da der Knochen äußerlich unversehrt war, dürfte es sich hierbei um die von van Klinken und Hedges (1995) beschriebene knocheninterne Humifizierung organischer Knochenbestandteile handeln. Melanoidin-Komplexe bilden sich jedoch typischerweise aus Proteinen und Polysacchariden (Collins et al. 1992), jedoch können Maillard-ähnliche Reaktionen auch mit oxidierten Fettsäuren ablaufen. Normalerweise ist die Hydrolyse der dominierende Dekompositionsweg von Fettsäuren (Janaway et al. 2009), aber besonders sulfatreduzierende Bakterien können Fettsäuren im Zuge einer β -Oxidation enzymatisch abbauen (Widdel et al. 1983).

Da Adipocire in der Regel sehr beständig ist, muss eine deutliche Änderung in den Liegebedingungen stattgefunden haben, welche das ursprünglich anaerobe Milieu in aerobe Bedingungen umgewandelt hat (Pfeiffer et al. 1998). Es ist denkbar, dass die Fäulnisphase bereits außerhalb des Erdgrabs weit fortgeschritten war und der Leichnam erst im Laufe der späteren, „trockenen“ Verwesungsphase bestattet wurde. Eine interessante Beobachtung offenbarte sich bei der späteren histologischen Untersuchung der Probe, im Zuge derer innerhalb der physiologischen Lakunen der Compacta zahlreiche wurmförmige Organismen identifiziert wurden, welche als Nematoden aus der Familie der Rhabditidae angesprochen werden konnten (siehe auch 5.1.2.2, Seite 190). Nematoden spielen eine wichtige Rolle bei der frühen Dekomposition bestatteter Leichen (Carter und Tibbett 2008), und der Präsenz von Meso- und Makroorganismen im Boden wird ein Schlüsseffekt bei der Degradation von Adipocire zugeschrieben (Fründ und Schoenen 2009). Die Humifizierung des Knochenmarks dürfte in direktem Zusammenhang mit der Präsenz der Nematoden im Knochen stehen (für mehr Details siehe 5.1.2.2, Seite 188 f.).

5.1.2.2 Mikrostrukturelle Analysen

Biotischer Knochenabbau der frühdiagenetischen Phase mit und ohne Bestattung (*in situ*)

Die histologische Untersuchung bakterieller Zerstörungsmuster innerhalb des Probenkollektivs Westfriedhof offenbarte, dass der Großteil der Knochen mikrostrukturell vollkommen unversehrt war und keine bzw. nur vereinzelt bakterielle Bohrkanäle aufwies.

Lediglich ein Siebtel der Proben zeigte einen beginnenden bakteriellen Angriff in Form von linear-longitudinalen Läsionen (vgl. 1.3), welche zunächst als eine Ausweitung der Osteocytenlakunen erschienen (vgl. Turner-Walker et al. 2002) und später auch das umliegende Gewebe betrafen. Weitläufigere Destruktionen wurden nicht beobachtet. Bei etwa der Hälfte der Proben schienen die bakteriellen Läsionen von den Havers'schen Kanälen auszugehen, was für eine Besiedlung des Knochengewebes mit der sich im Zuge der Dekomposition über das vaskuläre System ausbreitenden Kommensalenflora des Körpers spricht (vgl. White und Booth 2014). Eine geringere Anzahl

von Proben zeigte hauptsächlich eher periostal lokalisierte Bohrkanäle, was prinzipiell darauf hindeutet, dass die Mikroorganismen aus dem Bestattungsmilieu in den Knochen eingewandert sind (z.B. Jans 2008, Trueman und Martill 2002).

Die Vermutung lag daher nahe, dass ein Vordringen von aus dem umgebenden Sediment stammenden Keimen in den Knochen erst mit der Dekomposition der Särge möglich gewesen sein muss. Besonders viele Proben mit gutem Erhaltungszustand von textilen Resten wiesen zudem periostale Bohrkanäle auf. Eventuell boten die mit dem Körper oder Sarg assoziierten Textilien aufgrund der hohen Feuchtigkeits-Rückhaltekapazität ein vorteilhaftes Substrat für Bakterien.

Die Liegezeit hatte in der frühdiagenetischen Phase bei Erdbestattung keinen Einfluss auf die bakterielle Zerstörung der Mikrostruktur. Zahlreiche Autoren berichten, dass bakterielle Bohrkanäle bereits innerhalb kurzer Zeit nach dem Tod in den Knochen zu beobachten sind, wahrscheinlich schon während der Fäulnisphase (Bell et al. 1996, Jans et al. 2004, Yoshino et al. 1991). Das Potenzial zur raschen Entstehung von Bohrkanälen wurde ebenfalls durch die experimentellen Degradationsstudien in der vorliegenden Arbeit belegt (siehe weiter unten, Seite 184 ff.).

Vor diesem Hintergrund blieb das beobachtete Ausmaß der bakteriellen Zerstörung innerhalb des Probenkollektivs Westfriedhof hinter der eigentlich zu erwartenden Degradation zurück. Es ist in diesem Zusammenhang jedoch zu beachten, dass Bestattungen eines modernen Friedhofs nur eingeschränkt mit archäologischen Funden vergleichbar sind. Dabei spielen nicht nur die Beschaffenheit der Särge und das Vorhandensein von Bekleidungsgegenständen aus synthetischen Materialien eine Rolle. Seit Beginn des 20. Jahrhunderts gewannen intensive perimortale medizinischen Behandlungen immer mehr an Bedeutung. Besonders bedeutsam ist dabei der massive Einsatz von Antibiotika und, ab dem Jahr 1970, auch der von Chemotherapeutika (Cytostatika) zur onkologischen Therapie (DeVita und Chu 2008). Dies ist für die vorliegende Studie umso relevanter, da das durchschnittliche Alter der Individuen des Probenkollektivs mit 77 Jahren recht hoch war und damit eine erhöhte Wahrscheinlichkeit für die Anwendung derartiger perimortaler Behandlungen vorlag³⁹. Da zahlreiche Autoren feststellen, dass der mikrobielle Befall des Knochens bereits während der anaeroben Fäulnisphase stattfindet (siehe 1.3), dürfte die perimortale Abtötung der Bakterien innerhalb des Körpers einen entscheidenden Einfluss auf die Besiedlung des Knochens haben.

Dasselbe gilt auch für die postmortale Keimabtötung im Zuge der Einbalsamierung von Leichen (Mann et al. 1990, McQuinn 2011), auch wenn die intentionelle Leichenkonservierung in Deutschland nur in Ausnahmefällen zugelassen⁴⁰ und daher weit weniger häufig verbreitet ist als in anderen Ländern. Bei Überführungen aus dem Ausland müssen die Körper einbalsamiert werden, was unter anderem die vollkommen unversehrte Mikrostruktur der Probe WF 24 (Bestattung im Zink-

³⁹ Im Jahr 2013 war jeder vierte Todesfall in Deutschland auf Krebs zurückzuführen (Statistisches Bundesamt, www.destatis.de), die Anzahl der unmittelbar vor dem Tod anderweitig antibiotisch behandelten Personen ist anhand der Statistiken schwer abzuschätzen, dürfte jedoch signifikant sein. Hayman und Oxenham (2015) wiesen in ihrer Studie eindrucksvoll nach, dass die Dekompositionsrate eines Leichnams, welcher vor dem Tod im Zuge einer onkologischen Behandlung zusätzlich zu der verabreichten Cytostatikatherapie eine umfangreiche Antibiose erhalten hatte, im Vergleich zu einem nicht derart behandelten Körper extrem verlangsamt war.

⁴⁰ Bestattungsgesetz, §29 (Konservierung und Einbalsamierung von Verstorbenen), Art. 1

sarg) erklären kann. Die hauptsächlich aus Formaldehyd und Methanol zusammengesetzte Einbalsamierungsflüssigkeit, die jedoch je nach Anwendungsbereich noch eine Reihe weiterer aktiver chemischer Inhaltsstoffe enthält, wird in das vaskuläre System des Körpers eingespritzt und ersetzt so das Blut, um den Leichnam haltbar zu machen (McQuinn 2011). Die bis in die Kapillaren des Körpers vordringenden Chemikalien verzögern so aufgrund ihrer antibakteriellen Wirkung in hohem Maße die natürlichen Dekompositionsprozesse und verhindern ebenfalls eine rasche mikrobielle Besiedlung des Knochengewebes.

Die Analyse der unbestatteten Rehknochen als Vergleichskollektiv zu den frühdiagenetischen Vorgängen bei Erdbestattung zeigte, wie schnell sich mikrobielle Destruktionsmuster nach dem Tod an der Knochenmikrostruktur manifestieren können. Bei 14 der 20 untersuchten Proben konnten bereits bakterielle Bohrkanäle beobachtet werden, bei der Hälfte der Individuen sogar bereits nach 51 bzw. 72 Tagen nach der Auslegung der Kadaver, wobei sich die bakteriellen Läsionen wieder mehrheitlich in den mittleren Bereichen des Knochenquerschnitts konzentrierten. Lediglich Reh 5 zeigte weder nach dem ersten noch nach dem zweiten Beprobungsintervall Zeichen mikrobieller Destruktion.

Die von Fernández-Jalvo et al. (2010) beschriebenen Mikrotunnel, welche in deren Taphonomiestudie bei Knochen auftraten, welche mit Algen, Flechten oder Moosen bewachsen waren, konnten bei keiner der hier analysierten Proben beobachtet werden. Jedoch stand der Bewuchs einiger Knochen mit Algen mit einer beginnenden mikrostrukturellen Destruktion in Verbindung, wobei die Bohrkanäle vom linear-longitudinalen Typ waren. Da jedoch auch nicht veralgte Proben fokale Destruktionen aufwiesen, kann kein absoluter Zusammenhang zwischen den beobachteten Bohrkanälen und dem Algenbewuchs hergestellt werden.

Auch die oft in Zusammenhang mit Tierknochen diskutierten Wedl-Tunnel (z.B. Trueman und Martill 2002) konnten weder im untersuchten tierischen noch im menschlichen Probenkollektiv bestätigt werden, obwohl Arnaud et al. (1978) sowie Schultz (1997) diese mit Algenwachstum in Verbindung bringen⁴¹.

Biotischer Knochenabbau nach längeren Liegezeiten bei Erdbestattung

Die histologische Analyse des bakteriellen Angriffs auf das Knochengewebe nach längeren Liegezeiten ergab ein weitaus diverseres Bild als bei den frühdiagenetisch beeinflussten rezenten Proben.

Alle Knochen zeigten zumindest ansatzweise Spuren von bakterieller Aktivität in Form von linear-longitudinalen, knospigen oder lamellaren Destruktionsmustern (siehe 1.3), eine vollkommen unversehrte Mikrostruktur wurde in keinem der Fälle beobachtet. Bei 31 % der Knochen war der

⁴¹ Eigene, nicht veröffentlichte Vorversuche an Knochen aus mariner Umgebung bzw. einem Brackwassersystem unterstützen die Theorie von Garland (1989) und Millard (2001), nach welcher Wedl-Tunnel eher in Knochen aus marinem Kontext auftreten und auf Cyanobakterien zurückgeführt werden können.

gesamte Querschnitt des Knochens von bakteriellem Abbau zerstört (OHI = 0). Die insgesamt bimodale Erscheinung des Verteilungsmusters der Indexklassen mit geringerer Repräsentation der intermediären Stufen spricht dafür, dass die mikrobielle Destruktion des Knochens bei ungestörtem Ablauf in der Regel rapide verläuft. Diese Beobachtung entspricht den bereits in anderen Studien gemachten Erfahrungen (z.B. Harbeck 2007, Hedges et al. 1995, Hoke 2008, Jans et al. 2004). Sofern noch erkennbar, schien der Ursprung des bakteriellen Befalls in den meisten Fällen, wie im Fall der Proben des Westfriedhofs, vom inneren Bereich der Compacta auszugehen, was ebenfalls für eine endogene Invasion des Gewebes spricht. Es stellt sich jedoch die Frage, weshalb die beginnende bakterielle Degradation einiger Proben (OHI = 4) in dieser Phase stagnierte und nicht weiter bis zur vollständigen Zerstörung voranschritt.

Lediglich im Fall von OTZ 1 kann diese Stagnation aufgrund der Grünfärbung des Knochens direkt nachvollzogen werden. Die beginnende bakterielle Zerstörung der Mikrostruktur im Zuge der Fäulnis der Leiche wurde vermutlich durch die sukzessive Oxidation der mit dem Körper assoziierten metallenen Gegenstände aus Bronze und der daraus resultierenden Durchdringung des Gewebes mit den Korrosionsprodukten gestoppt. Die für die Färbung des Knochens ursächlichen Kupferionen wirken toxisch auf Bakterien (Silver und Phung 2005, Thurman et al. 1989) und konnten so das Gewebe gegen weitere mikrobielle Zerstörung schützen. Für die nähere Charakterisierung der Korrosion von Bronze und den Effekt auf Knochen siehe Seite 192.^{42, 43}

Erkenntnisse aus der intentionellen mikrobiellen Beimpfung zum biotischen Knochenabbau

Die Analyse der experimentell bakteriell beimpften frischen Knochenproben zeigte, dass es möglich war, innerhalb kurzer Zeit unter Laborbedingungen Bohrkanäle in den Knochen hervorzurufen, wenngleich dies lediglich bei der Hälfte der angeimpften Proben (n = 6) in größerem Ausmaß gelang. Zwar konnten mikrostrukturell sichtbare, bakteriell induzierte Läsionen an experimentell beimpftem frischen Knochen bereits in einigen Studien nachgewiesen werden, jedoch waren

⁴² Auffällig war, dass alle Proben des Fundkomplexes Regensburg-Minoritenweg (MWL) einen guten mikrostrukturellen Erhalt aufwiesen, lediglich die Probe MWL 193 wich mit einem OHI von 1 deutlich von den anderen ab. Die Liegezeit hatte auch innerhalb des archäologischen Probenkomplexes keine signifikante Korrelation mit dem Auftreten bakterieller Zerstörung der Knochenmikrostruktur, und daher wird auch hier vermutet, dass der beobachtete Erhaltungszustand der Proben mit der initialen Inhibierung der Fäulnis zusammenhängt.

Hollund et al. (2012) erkannten an disartikuliert begrabenen Tierknochen keine oder kaum feststellbare bakterielle Degradation und schlossen daraus, dass die Rolle der im Boden vorkommenden Bakterien bei der Zersetzung des Gewebes nur von geringer Bedeutung sein kann. Weiterhin folgerten die Autoren, dass Böden mit hohem Huminstoffgehalt sowohl die autolytischen als auch die mit der Fäulnis assoziierten Prozesse durch inaktivierende Enzyme inhibieren können (van Klíniken und Hedges 1995, Nicholson 1998) und daher bakteriell wenig beeinträchtigte Knochen auf ein rasches Begräbnis kurz nach dem Tod hinweisen.

⁴³ Im Fall der Individuen aus Sulzbach zeigte der analysierte Knochen der weiblichen Bestattung SB 626 einen stärkeren mikrobiellen Befall als der des Mannes SB 664. Der morphologische Befund der Individuen ergab, dass SB 626 zum Zeitpunkt des Todes vermutlich in einer allgemein schlechten gesundheitlichen Verfassung war, da sich diverse Dekubitus-Läsionen sowie Hinweise auf Diabetes am Skelett nachweisen ließen (siehe 2.2.7). Dieser Zustand wirkt allgemein beschleunigend auf das Einsetzen des Fäulnisprozesses, und damit stieg auch die Wahrscheinlichkeit eines raschen Befalls des Knochengewebes (Campobasso et al. 2001, Hayman und Oxenham 2015). Entscheidend dürfte auch gewesen sein, in welcher Jahreszeit der Tod eintrat, da eine Kühlung der Leichen nicht möglich war und die Fäulnis im Sommer sehr schnell voranschreitet.

diese in der Regel auf die physiologischen Hohlräume des Knochens beschränkt und beeinträchtigten kaum die Integrität des umliegenden Gewebes (Balzer et al. 1997, Grupe und Dreses-Werringloer 1993). Für Inokulationsversuche mit anaeroben Keimen existieren kaum Vergleichsstudien. Lediglich Jackes et al. (2001) konnten nach der Inkubation von *Clostridium sporogenes* kraterartige Läsionen an der Knochenoberfläche beobachten.

In der vorliegenden Studie wiesen alle sechs Kontrollen, trotz teilweise massiven Schimmelbefalls, einen OHI-Wert von 5 auf, zeigten aber dennoch einzelne Bohrkanäle in Form von vergrößerten Osteocytenlakunen. Jedoch wirkten sich diese auf nicht mehr als 5 % des Knochenquerschnitts auf, was eine Herabstufung des histologischen Index-Werts gerechtfertigt hätte. Die mit *Streptomyces griseus* beimpften Knochen waren bis zum Ende der Inkubation frei von Schimmel, was auf die Produktion antibiotischer Substanzen durch den Keim zurückzuführen sein dürfte (vgl. 3.4.2.1)⁴⁴. Alle mit *S. griseus* beimpften Proben wiesen einen OHI-Wert von 4 auf und zeigten damit bereits ausgedehntere Bereiche mit mikrobiell zerstörter Mikrostruktur. Dies spricht dafür, dass sowohl die für die Animpfung verwendeten Bakterienstämme als auch die mykotische Kontamination Bohrkanäle in den Knochen hervorrufen konnten.

Schimmel ist ubiquitär anzutreffen, und die Sporen werden in der Regel über die Luft verbreitet (Kück et al. 2009). Eine Inaktivierung mittels kurzweiliger UV-Strahlung (UV-C), wie sie in der vorliegenden Arbeit zur Sterilisierung der Knochenproben vor der Animpfung angewendet wurde, ist für die Eliminierung von Pilzsporen offensichtlich nur in begrenztem Maß geeignet. Dies dürfte darauf zurückzuführen sein, dass die erheblichen Variationen des Inaktivierungserfolgs gattungsspezifisch sind (Begum et al. 2009) beziehungsweise in tiefer gelegenen Schichten des Knochens gelegene Sporen durch die Bestrahlung nicht erfasst werden konnten. Der die Knochen direkt umgebende Schimmelbefall deutete weiterhin darauf hin, dass die Sporen nicht im Laufe der Inkubation aus dem Umgebungsmilieu eingetragen wurden sondern zu Beginn der Experiments direkt mit dem Gewebe assoziiert waren.

Da Pilze jedoch mit zu den Haupt-Destruenten organischer Materie während der Dekomposition zählen (Bruns et al. 1991) und dank ihrer ubiquitären Verbreitung auch im Grabmilieu angetroffen werden, war die Kontamination der Proben nicht nachteilig für den absoluten Aussagegehalt des Experiments.⁴⁵

Auch die sehr stark verschimmelte Kontrolle von Femur 3 wies keine Anzeichen von mikrostruktureller Destruktion auf. Mehr noch, im Zuge der Aminosäureanalyse dieser Probe nach der Kollagenextraktion zeigte sich ein auffällig erhöhter Valin-Wert, welcher den der übrigen Proben um etwa das Fünffache überstieg (siehe Punkt 4.1.3.3). Valin ist einer der beiden Grundbausteine von Penicillin (García-Estrada und Martín 2014), was auf die Produktion des Antibiotikums durch den

⁴⁴ Streptomycin ist zwar ein Bakterizid, jedoch wurde auch ein hemmender Effekt auf das Wachstum von Pilzhyphen nachgewiesen (Ingham et al. 1986).

⁴⁵ Auch ist es möglich, dass hauptsächlich die äußeren Bereiche des Knochens von Schimmelbewuchs betroffen waren, während die Bakterien durch das vollständige Eintauchen der Proben in die Animpf-Suspension auch tiefer in den Knochen vordringen konnten. In mindestens zwei Fällen jedoch wurden die Bakterien durch den Schimmel vermutlich abgetötet. Die am stärksten kontaminierte Probe der aeroben Inkubation (Femur 3, *Pseudomonas fluorescens*) zeigte als einzige der beimpften Proben der Serie einen OHI-Wert von 5, da hier keinerlei Bohrkanäle festgestellt wurden.

Schimmelpilz hindeutet, welcher anhand der Morphologie als *Aspergillus nidulans* angesprochen werden könnte (<http://mycota-crc.mnhn.fr>).

Auch in den anaerob inkubierten Proben waren nach dem Ende des Versuchs Bohrkanäle in den Proben nachweisbar, wenngleich nur eine Probe (Femur 2, *Prevotella melaninogenica*) einen OHI-Wert von 4 und damit bereits großflächigere Läsionen aufwies. Die unbeimpften Kontrollen zeigten keine Anzeichen mikrobiellen Befalls. Auch die Knochen des Anaerobier-Experiments waren teilweise von Schimmelbildung betroffen. Die meisten Pilze sind obligate oder fakultative Aerobier, da für die Keimung der Sporen in den meisten Fällen Sauerstoff benötigt wird (Carlile et al. 2001). Manche filamentöse Pilze sind jedoch auch an anaerobes Wachstum angepasst und sind in der Lage, mittels Ammoniakfermentation (Nitratoxidation) oder anderer, noch nicht geklärter Mechanismen, auch unter anaeroben Bedingungen zu existieren (Taubitz et al. 2007). Dies wurde unter anderem für *Aspergillus nidulans* nachgewiesen (Takasaki et al. 2004).

Wie weiter oben beschrieben halten zahlreiche Autoren die initiale, anaerobe Phase der Fäulnis für den entscheidenden Zeitraum für die Erstbesiedelung des Knochengewebes mit Bakterien. In diesem Versuch war es erstmals umfangreich gelungen, Bohrkanäle unter experimentellen Bedingungen mit verschiedenen anaeroben Mikroorganismen innerhalb von nur 6 Monaten zu erzeugen, was die Möglichkeit der Besiedlung des Knochens im anaeroben Milieu bestätigt. Die im Vergleich zur aeroben Inkubation spärlicher beobachteten Bohrkanäle könnten eine Folge der technisch bedingten kürzeren Inkubationszeit sein (6 Monate statt 9 Monate) und reflektieren nicht zwingend eine geringere Effizienz des Knochenabbaus durch die anaeroben Keime *Clostridium histolyticum* und *Prevotella melaninogenica*.

Sowohl in den Knochen der aeroben als auch der anaeroben bakteriellen Degradation fanden sich die Bohrkanäle hauptsächlich im endostalen und periostalen Bereich des Knochenquerschnitts. Da in diesem Fall, im Gegensatz zu den *in situ* degradierten Proben, keine endogene bakterielle Invasion vorlag, sondern die Keime von außen auf den Knochen aufgebracht wurden, entsprach dieses Muster den Erwartungen.

Organische Kontaminationen des Knochens

Deutliche braune Verfärbungen der Knochen im Zuge der Einwanderung von Huminstoffen drangen nur in wenigen Fällen tiefer als 500 µm in das Gewebe vor, wobei dies häufiger bei den frühdiagenetisch beeinflussten Proben als bei den Knochen des archäologischen Kollektivs zu beobachten war. Es bestand weder eine statistische Korrelation mit dem bakteriellen Befall noch mit der Liegezeit. Im Zusammenhang mit der Bodenanalyse wurde bereits diskutiert, dass kein unmittelbarer Zusammenhang zwischen dem Gehalt an organischer Substanz des Sediments, welcher hauptsächlich durch die Farbe ausgedrückt wird, und der Eindringtiefe von Huminstoffen bestätigt werden konnte (5.1.1). Es wird vermutet, dass im Zuge der Zersetzung des Holzes der Särge oder anderer organischen Materialien, welche mit der Bestattung assoziiert waren, wie

Kleidungsstücke oder Sargauskleidungen aus organischen Fasern (Cellulose, Keratin), Tannine und andere Huminstoffe in hohen Konzentrationen auf die Knochen einwirken (z.B. Shevchenko und Bailey 1996). Die Art des verwendeten Holzes dürfte dabei ebenso eine Rolle spielen, da Eichenholz beispielsweise besonders viel Tannin enthält. Die hochmolekularen, meist aromatischen Verbindungen der Humin- oder Fulvonsäuren bzw. des Humins können dann im Zuge einer Maillard-Kondensation schwer lösliche Verbindungen mit dem Kollagen des Knochens eingehen und so das Gewebe dauerhaft braun färben (van Klinken und Hedges 1995, 1.3.3.1).

Die Tatsache, dass die Proben des archäologischen Kollektivs weniger stark von Huminstoffkontaminationen betroffen waren, kann verschiedene Ursachen haben. So ist die reguläre Bestattung von Toten in Holzsärgen erst seit dem 17. Jahrhundert gängige Praxis, in der Regel wurden vorher, meist mit Ausnahme höher gestellter Personen, lediglich Leichentücher verwendet (Neumann 1994), was einen geringeren Eintrag von verrottbarer Biomasse in den Bestattungsbereich bedeutet.

Neben der Verfärbung des Knochens durch Huminstoffe konnten im Zuge der histologischen Auswertung des Probenkollektivs Westfriedhof noch weitere organische Kontaminationen des Knochens festgestellt werden, die teilweise endogenen Ursprungs waren. So konnten in vier Fällen noch Reste des vaskulären Systems in den Havers'schen Kanälen nachgewiesen werden. Die längste Liegezeit betrug hier 26 Jahre, wobei die ausgedehnteste knocheninterne Weichgewebserhaltung bei einem postmortalen Intervall von 9 Jahren lag. Es ist denkbar, dass eine rasche Austrocknung des Gewebes den bakteriellen Abbau des Weichgewebes innerhalb der Knochen verlangsamt, eventuell eine Folge fortgeschrittener Verwesung vor der Bestattung (vgl. Jans 2013). Weder die Bodenbeschaffenheit noch der Erhalt von Särgen und/oder Bekleidung schien einen signifikanten Einfluss auf den Erhalt von Weichgewebsresten innerhalb des Knochens zu haben. Häufiger beobachtet werden konnte die Persistenz von Fettwachs innerhalb der physiologischen Hohlräume. Jans (2013) beschrieb eine identische Beobachtung in histologischen Knochenschnitten von Rippen unbestatteter menschlicher Körper, jedoch nur bis zu einer maximalen Liegezeit von 4 Jahren. In der vorliegenden Studie konnte Adipocire innerhalb der Knochen bis 39 Jahre nach dem Tod (WF 44) nachgewiesen werden. Wie unter 1.3.3.2 beschrieben, unterscheiden sich beerdigte Körper in ihrem Dekompositionsverhalten deutlich von oberflächlich deponierten Kadavern, was insbesondere in einer stark verlangsamten Dekompositionsrate zum Ausdruck kommt. Auch die Voraussetzungen für die Entstehung von Adipocire sind im anoxischen Milieu von Gräbern deutlich besser als an der Oberfläche. Anders als in den Fällen äußerlich sichtbaren Fettwachses (vgl. 5.1.2.1) war die interne Adipocirebildung nicht immer mit einem guten Erhalt von textilen Resten assoziiert. Fettwachs ist jedoch, einmal entstanden, äußerst resistent gegen Degradation und dürfte sich innerhalb des geschützten Mikromilieus der Knochencompacta auch noch lange halten, wenn sich die Umgebungsbedingungen ändern.

Eine weitere Beobachtung exogener organischer Kontamination war das Auftreten von als Pilzsporen identifizierten sphärischen Objekten von etwa 20 µm Durchmesser innerhalb der physiologischen Hohlräume einiger Knochen des Westfriedhofs. In einigen Fällen schienen die Sporen

gekeimt zu sein und Konidien zu entwickeln. Da Pilzsporen in ihrer Form und Größe enorm variabel sind sowie zahlreiche Arten ubiquitär im Boden vorkommen (Watanabe 2002), war eine nähere Eingrenzung so nicht möglich. Pilze werden als Primärdestruenten in terrestrischen Ökosystemen angesehen (Bruns et al. 1991) und wurden während der fortgeschrittenen Verwesung unbestatteter Kadaver in der sich um den Körper bildenden Cadaver Decomposition Island nachgewiesen. Auch auf exhumierten Leichen wurden diverse Pilzarten nachgewiesen, jedoch nach eher kurzem postmortalem Intervall (Hawksworth und Wiltshire 2011, Ishii et al. 2006).

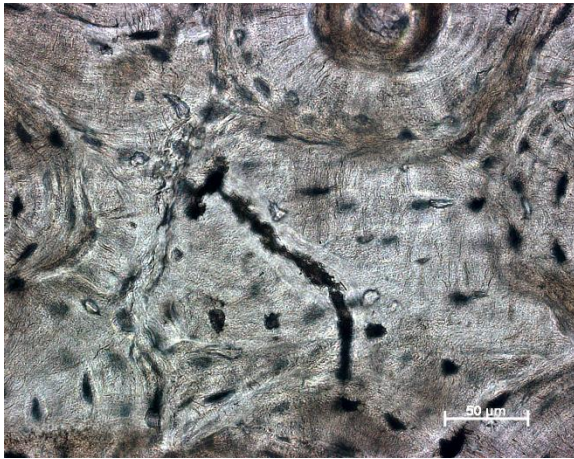


Abb. 5.2 Mikrostruktureller Bohrkanal im Querschnitt des Knochens von WF 37, welcher der Aktivität von Pilzen zugeschrieben wird.

Alle Proben, in welchen Anzeichen von Pilzbefall sichtbar waren, zeigten ein relativ eng gefasstes postmortales Intervall, welches sich zwischen 16 und 26 Jahren bewegte, was den Befund für forensische Fragestellungen interessant erscheinen lässt. Ein Zusammenhang zwischen der Erhaltung von Särgen und Bekleidung konnte nicht hergestellt werden. Es ist nicht klar, ob die den Knochen besiedelnden Pilze nur Abbauprodukte des Weichgewebes nutzen oder Knochengewebe abbauen können, da hinsichtlich der Rolle von Pilzen bei der Dekomposition generell sehr wenig bekannt ist. Ein auffälliger Bohrkanal, welcher im histologischen Schnitt von Individuum WF 37, einem stark mykotisch kontaminierten Knochen, beobachtet werden konnte, ähnelt den in Fernández-Jalvo et al. (2010) beschriebenen Destruktionsmustern, welche der Aktivität von Pilzen zugeschrieben wurden und deutet daher auf die lytische Aktivität von Pilzhypen innerhalb der Knochenmikrostruktur hin (Abb. 5.2). Bei den mykotisch kontaminierten Proben des bakteriellen Degradationsexperiments konnten entsprechende Beobachtungen jedoch nicht gemacht werden.

Ein weiterer interessanter Befund, welcher in den histologischen Schnitten von zwei Proben des Westfriedhofs gemacht wurde, war das Auftreten von Konglomeraten wurmförmiger Organismen innerhalb der Havers'schen Kanäle. Da diese mit einer Länge von etwa 100 µm zu groß für im Boden vorkommende Spirochäten waren, kann der Organismus auf den Stamm der Fadenwürmer (*Nematoda*) eingegrenzt werden. Nematoden sind ubiquitär verbreitet und stellen einen wichtigen Teil der Bodenfauna. Obwohl den Nematoden eine tragende Rolle bei der Zersetzung beerdigter Körper zugesprochen wird (Carter und Tibbett 2008), sind kaum Studien zu nekrophagen Nematoden veröffentlicht. Metcalf et al. (2013) stellten in ihrer Arbeit fest, dass die Zersetzung eines Mäusekadavers im Zuge der Vermehrung der mit dem Kadaver assoziierten Bakterien die Proliferation von bakteriophagen Nematoden auslöste. Der Überfluss an Bakterien infolge des starken Impulses der Freisetzung von Nährstoffen lockte so auch die Nematoden an, welche sich von den Bakterien ernähren. Die entsprechende Art wurde als *Oscheius tipulae* bestimmt, einer der am häufigsten auftretenden Bodennematoden aus der Familie der *Rhabditidae* (Félix 2006).

Ein Vorkommen innerhalb von Knochen wurde noch nie beschrieben. Dennoch ist es wahrscheinlich, dass es sich im vorliegenden Fall um dieselbe Art handeln könnte. Da die Knochen jeweils mechanisch unversehrt waren, müssen die Fadenwürmer über die *Foramina nutritia* in den Knochen eingedrungen sein und über Havers'sche und Volkmann'sche Kanäle im Knochen ausgebreitet haben, um an die sich dort befindlichen Bakterien zu gelangen.

Ähnlich wie im Fall der Pilzsporen könnte auch das Auftreten von Nematoden im Knochen wertvolle Informationen für forensische Liegezeitbestimmungen bieten (vgl. Carter et al. 2015), da auch hier das postmortale Intervall mit 22 bzw. 23 Jahren sehr eingegrenzt war.

Rekristallisation und anorganische Kontaminationen des Knochens nach kurzen Liegezeiten

Die histologisch erkennbaren Veränderungen der kristallinen Organisation der Knochenmikrostruktur ließen sich in zwei verschiedene Hauptmechanismen einteilen.

Bei den frühdiagenetisch veränderten Proben des Westfriedhofs konnte hauptsächlich die periostale Anlösung des Knochenminerals beobachtet werden, in einigen Fällen mit anschließender Rekristallisation in größeren Kristalliten, was auf die lokale Bildung von Brushit (siehe 1.3.2.1) hinweist. In der Literatur finden sich ähnliche Beobachtungen, jedoch bei Proben mit deutlich längeren Liegezeiten (vgl. Abb. 5.3). So beschrieb Piepenkrink (1989) die periostale Anlösung des Minerals aufgrund saurer Umgebungsbedingungen in einem mittelalterlichen Femur und folgte, dass dies ausschließlich nach mehreren Hundert Jahren Liegezeit auftreten kann. Jans (2013) machte dieselbe Beobachtung des korrosiven Einflusses sauren Milieus, jedoch in einem Knochen mit einem postmortalen Intervall von 200 Jahren. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigten jedoch, dass dieser Effekt bereits wenige Jahre nach der Bestattung auftreten kann, im frühesten beobachteten Fall 14 Jahre *postmortem*.



Abb. 5.3 Vergleich der in der Literatur veröffentlichten histologischen Bilder, welche die Anlösung der periostalen Knochenschicht durch saure Umgebungsbedingungen nach längeren Liegezeiten beschreiben, mit einer Probe des Westfriedhofs. a) Mittelalterliches Femur (Piepenbrink 1989), b) 200 Jahre Liegezeit (Jans 2013), c) WF 34, 33 Jahre Liegezeit.

Dies ist wenig überraschend, da im Zuge der Weichgewebszersetzung des Kadavers stark saure Dekompositionsprodukte in Form von organischen Säuren und Gasen (vgl. 1.3.3.1), aber auch Schwefelsäure aus dem aeroben Abbau von Sulfiden entstehen (Dent 2004), welche das aufgrund des hohen Carbonatgehalts säurelösliche Knochenmineral angreifen können. In den Särgen kann die saure Dekompositionsflüssigkeit mitunter schlecht ablaufen, und auch mit dem Körper in Kontakt stehende Textilien der Sargauskleidung bzw. persönliche Bekleidungsgegenstände saugen sich mit der sauren Flüssigkeit voll und halten diese so länger am Körper. Vermutlich wird der Prozess gestoppt, sobald sich das Umgebungsmilieu durch die Zersetzung von Särgen und Kleidung neutralisieren kann und dürfte bei stabilen Liegebedingungen, insbesondere dem Ausbleiben von hydrologischen Fluktuationen, auch nicht weiter voranschreiten.

Neben dieser im periostalen Randbereich auftretenden Mineralauflösung und Rekristallisation konnten weiterhin auch lokale Rekristallisationsphänomene im Bereich um bakterielle Destruktionsfoci beobachtet werden. Dies war bei einer Probe des Westfriedhofs der Fall (WF 27), nach einem postmortalen Intervall von 50 Jahren, jedoch auch bereits bei einem der unbestatteten Rehknochen, nach lediglich 6 Monaten Liegezeit.

Es ist bekannt, dass Mikroorganismen im Zuge des Abbaus von Knochengewebe saure Metabolite produzieren, welche das Knochenmineral im Bereich der Bohrkanäle anlösen können. Das Absterben der Bakterien innerhalb des Knochens führt wiederum zu einem lokalen pH-Wert-Anstieg, da durch die Lyse der Zelle Ammonium und andere Metabolite freigesetzt werden. Dadurch rekristallisiert das gelöste Knochenmineral (Child 1995a).

Im Fall der frühdiagenetisch beeinflussten Proben des Westfriedhofs wurde lediglich in einem Knochen mutmaßlich echte authigene Kristallbildung innerhalb des Gewebes festgestellt. Dabei handelte es sich um in Stapeln angeordnete kristalline Objekte, welche in ihrer Opazität, Farbe, Größe und Form von den bereits diskutierten Pilzsporen abwichen. Der Befund ähnelte sehr stark den in der Studie von Hollund et al. (2012) beschriebenen framboidalen⁴⁶ Pyrit-Kristallen (vgl. Abb. 5.4).⁴⁷

⁴⁶ frz. *framboise* = Himbeere; beschreibt die Morphologie von beerenförmigen Aggregaten kleiner Kristalle

⁴⁷ Pyrit (Eisenkies, FeS_2) kann durch die Aktivität sulfatreduzierender Bakterien durch den Abbau sulfathaltigen organischen Substrats entstehen, indem Sulfationen zu Hydrogensulfid reduziert werden. In Anwesenheit von Eisen reagiert das Hydrogensulfid mit diesem zu thermodynamisch stabilen Eisensulfiden (Muyzer und Stams 2008). Dieser Prozess findet jedoch nur unter anaeroben Bedingungen statt (Swift et al. 1979). Solche Bedingungen sind jedoch bei der Dekomposition eines beerdigten Körpers gegeben, insbesondere im relativ abgeschlossenen Milieu der Compacta des Knochens. Sulfatreduzierende Anaerobier können so die organischen Bestandteile im vaskulären System der Knochen nutzen (Turner-Walker 1998). Der dabei entstehende Schwefelwasserstoff dürfte dabei auch die Besiedlung des Knochens mit anderen Mikroorganismen verhindern und so zu dessen Erhaltung beitragen (Swift et al. 1979). Tatsächlich zeigte die betroffene Probe in den Bereichen der Hohlräume, welche die mutmaßlichen Pyritformationen aufwiesen, auch keine Anzeichen bakterieller Bohrkanäle. Das für die Pyritentstehung nötige freie Eisen könnte aus der Korrosion von metallenen Beschlägen oder anderen metallischen Teilen des Sarges stammen, wobei bereits das im Hämoglobin gebundene Eisen als Quelle des Metalls als für die Reaktion ausreichend diskutiert wird (Pfretzschner 2000). Hollund et al. (2012) stellten fest, dass die Bildung der framboidalen Form des Pyrits vorzugsweise dann stattfindet, wenn die entsprechenden Eisenmonosulfide rapide zu Pyrit reagieren (Wilkin und Barnes 1996). Dafür muss der Gehalt des für die Bakterien nutzbaren organischen Substrats hoch sein (Berner 1984), weshalb die Autoren folgerten, dass die Bildung des framboidalen Pyrits bereits vor dem Abschluss der vollständigen Skelettierung stattgefunden haben muss. Die Befunde der vorliegenden Studie würden erstmals diese Hypothese bestätigen, jedoch müsste dies mittels gezielter Elementanalyse bestätigt werden.

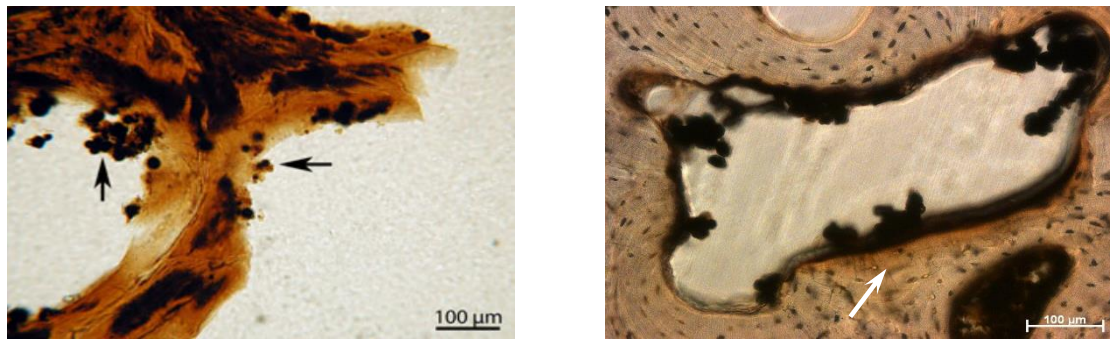


Abb. 5.4 Links: Framboidale Pyritkristalle in der Spongiosa eines römischen Knochens (Hollund et al. 2012). Rechts: Mutmaßliche Pyritkristalle in der Resorptionslakune von WF 18, Liegezeit 46 Jahre. Der leicht orange gefärbte Rand (Pfeil) könnte ein Hinweis auf die Einwanderung von Eisenoxid in das Gewebe sein.

Mineralische Veränderungen und anorganische Kontaminationen bei fortgeschrittener Diagenese

Bei den Knochen des archäologischen Probenkollektivs dominierte die Bildung authigener Kristallformationen, wobei im Zuge des bakteriellen Abbaus auch mikrobiell induzierte Auflösungen des Knochenminerals mit anschließender Rekristallisation stattgefunden haben, welche in vielen Fällen ausgedehnte Bereiche der Knochenquerschnitte betrafen. Jedoch war hier aufgrund der oft großflächigen mikrostrukturellen Zerstörung die initiale Zersetzung nicht mehr rekonstruierbar. Die Bildung von Kristallen betraf sowohl die physiologischen Hohlräume innerhalb des Knochens als auch den endostalen Rand bzw. die Spongiosa, was darauf hinweist, dass Ionen aus dem Umgebungsmilieu über das vaskuläre System tief in den Knochen eingedrungen waren. Es ist schwierig, die Minerale ohne gezielte Elementanalyse anhand der Kristallmorphologie eindeutig zu identifizieren.⁴⁸

Die hohe Repräsentanz von Sulfiden und Sulfaten weist darauf hin, dass die Bildung der entsprechenden Mineralphasen vermutlich während der frühen Phase der Diagenese in anaerobem Milieu stattfand. Ein weiteres, häufig beobachtet authigenes Kristallisationsprodukt, welches anderen Bildungsmechanismen folgen dürfte, ist Calcit ($\text{Ca}[\text{CO}_3]$, z.B. Michel et al. 1996, Pate und Hutton 1988). Zwar wurde für einige Mikroorganismen nachgewiesen, dass sie in der Lage sind, Calcit auszuscheiden (Daskalakis et al. 2015), jedoch kann das Mineral auch durch Anlösung des Knochenminerals und Ca^{2+} -Überschuss aus dem Umgebungsmilieu bzw. gelöstem Ca^{2+} und CO_3^{2-} aus dem Grundwasser (siehe auch 1.3.2) über die Vorstufe des amorphen, instabilen Calciumcarbonats (ACC) entstehen. Die Gegenwart von organischen Molekülen wie freien Aminosäuren, Aminen oder Carbonsäuren bedingt die Kristallisierung in einer speziellen, hexagonal organisierten Calciumcarbonat-Modifikation, welche als Vaterit bezeichnet wird (Neumann 2008).

⁴⁸ Pyrit gilt als das häufigste Permineralisationsprodukt in Knochen, jedoch ist es langfristig nur in Abwesenheit von Sauerstoff stabil und zerfällt bei Sauerstoffexposition, auch während der Lagerung nach der Ausgrabung, zu Eisen und Sulfat, woraufhin sich andere Mineralphasen bilden können (Leduc 2012). Baryt (Schwerspat, $\text{Ba}[\text{SO}_4]$) wird als zweithäufigstes authigenes Füllmaterial innerhalb des Knochens bezeichnet und tritt oft als sekundäres Sukzessionsmineral zu Pyrit auf, wenn baryumhaltiges Grundwasser in anaeroben Sedimenten mit hohem Organik-Anteil in den Knochen eindringt (Torres et al. 2003). Ist das Umgebungsmilieu reich an Strontium, entsteht das analoge Sr-Mineral Coelestin ($\text{Sr}[\text{SO}_4]$). Ebenso häufig ist die Bildung von Spalerit (Zinkblende, ZnS) (Leduc 2012).

Im Zuge der spektrometrischen Analysen konnten die in einigen Proben (alle Knochen des Fundorts Bruchsal-Aue, mit Ausnahme von BrA 3, sowie MWL 251) histologisch erfassten authigenen Kristalle als Calciumcarbonat identifiziert werden (siehe auch 5.1.4.3), die restlichen Kristallaggregate konnten nicht näher eingegrenzt werden.

Nicht nur Kristalle konnten als anorganische Kontamination in den Knochen nachgewiesen werden. Die Probe OTZ 1 wies eine deutliche Grünfärbung des Gewebes auf, welche, wie bereits eingangs erwähnt, auf die Korrosion von mit dem Körper assoziierten Gegenständen aus Bronze zurückgeführt werden kann. Die auch als Grünspan bezeichnete Patina, welche regelmäßig auf archäologischen Kupfer-Zinn-Legierungen (Bronze) angetroffen wird, entsteht durch einen selektiven Verlust von Kupferionen aus dem Metall (Robbiola et al. 1998).⁴⁹

5.1.3 Degradation des Kollagens

5.1.3.1 Zusammenhänge zwischen dem Gewichtsanteil der extrahierten Organik, % C und % N, C/N sowie der Aminosäurezusammensetzung

Bei der Auswertung der Ergebnisse zum Gewichtsanteil der organischen Knochenfraktion fiel zunächst auf, dass die frischen, diagenetisch unveränderten Proben mit 12-21 % eine enorm weite Spanne hinsichtlich der Extraktionsausbeute aufwiesen. Dabei war die Gewichtsausbeute bei dem Knochen mit der geringsten Compactadicke (Femur 3; 4,1 cm) auch am niedrigsten, die Probe mit der größten Compactastärke (Femur 2; 6,2 cm) wies den höchsten prozentualen Organik-Anteil auf. Für frische menschliche Knochen ist ein Gewichtsanteil für Kollagen von 21-23 % am Gesamtknochengewicht beschrieben (DeNiro und Weiner 1988), und somit lagen zwei der drei frischen Femurproben unter diesem Wertebereich.

⁴⁹ Die Grünfärbung von Hartgeweben durch die Bronzekorrosion kann durch zwei mögliche chemische Mechanismen erfolgen. Das in der Legierung vorkommende elementare Kupfer wird durch die im Zuge der Dekomposition des Kadavers freiwerdenden H^+ -Ionen zu Cu^{2+} oxidiert, welches schließlich mit Wasser und CO_2 zu Kupfercarbonat ($Cu^{2+}CO_3 \cdot Cu^{2+}(OH)_2$) reagiert. Das in Wasser gelöste Kupfercarbonat kann nun den Knochen durchdringen und durch Absorption an die Knochenoberfläche binden. Damit müsste jedoch der Knochen die grün-graue Farbe des Kupfercarbonats annehmen und nicht die hellgrün-türkise Färbung zeigen, welche in betroffenen Knochen meist beobachtet wird. Hopkinson et al. (2008) diskutieren daher, dass das Kupfercarbonat in die Knochenkristallite eingebaut wird, indem es das knocheneigene Calcium ersetzt. Das so entstehende Mineral wird als Pseudomalachit bezeichnet, das es in seinen physikochemischen Eigenschaften dem echten Malachit ($Cu_2[(OH)_2CO_3]$) ähnelt. Durch die während der Dekomposition des Körpers entstehenden Säuren wird das Knochenmineral angelöst, und die frei werdenden Ionen reagieren mit dem Kupfercarbonat nach folgender Gleichung zu Kohlendioxid, Wasser, Phosphat und Pseudomalachit (Hopkinson et al. 2008): $Cu_2 + CO_3 \cdot Cu^{2+} + (OH)_2 + 6HPO_4^{2-} \rightarrow 5CO_2 + 5H_2O + 2Cu_5(PO_4)_2(OH)_2 + 8PO_4^{2-}$.

Dass dieser Mechanismus im Fall der Probe OTZ 1 dennoch eher unwahrscheinlich war, zeigte die spektrometrische Untersuchung der Probe, im Zuge welcher keine für Pseudomalachit typischen Banden detektiert werden konnten (siehe 5.1.4.3). Es wird daher eher ein adsorptiver Mechanismus ohne profunde Beteiligung des Knochenminerals in Betracht gezogen.

Das älteste Individuum (Femur 3, Sterbealter 72 Jahre) wies dabei den niedrigsten Kollagenanteil am Gesamtknochengewicht auf. Die sich mit zunehmendem Alter verstärkende, erst di-, später tri- und tetravalente Quervernetzung ist kennzeichnend für Knochenkollagen und trägt so zu einer sukzessiven Stabilitätserhöhung des Proteins bei (Bailey et al. 1998, Child 1995b). Neben den enzymatischen Quervernetzungsreaktionen werden mit zunehmendem Gewebealter jedoch auch nicht-enzymatische Quervernetzungen durch die Glycosylierung von Lysin- und Hydroxylysinresten ausgebildet (Bailey et al. 1998, Reiser et al. 1992). Eventuell könnte dieser erhöhte Glycosylierungsgrad des Kollagens im Alter dazu führen, dass während der Gelatinisierung im Zuge der Kollagenextraktion eine Karamellisierung der Zuckermoleküle stattfindet (van Klinken und Mook 1990) und somit schwer lösliche Komplexe entstehen, welche durch den anschließenden Filtrationsschritt durch den Filter zurückgehalten und somit abgetrennt werden.⁵⁰

Die von den frischen humanen Knochen vorgegebene Spanne des molaren C/N-Verhältnisses war mit Werten zwischen 3,22 bis 3,35 sehr eng gefasst.⁵¹

In allen untersuchten Probenkollektiven wurde mehrheitlich eine Unterschreitung der Werte der frischen Referenzknochen festgestellt, lediglich die archäologischen Proben wiesen eher eine Überschreitung auf. Ein erniedrigtes molares C/N-Verhältnis kann durch eine Zunahme des prozentualen Kohlenstoffanteils bzw. einen Verlust von Stickstoff erklärt werden, eine Erhöhung wiederum folgt einem Abfall des prozentualen Kohlenstoff- bzw. einer Zunahme des Stickstoffanteils des organischen Extraktionsprodukts.

Die Ergebnisse der Aminosäureanalyse stellten sich als wichtiges interpretatorisches Mittel heraus, um die beobachteten Variationen in den prozentualen Kohlenstoff- und Stickstoffanteilen sowie Veränderungen der Isotopenverhältnisse von C und N des Kollagens erklären zu können.

Da in der Literatur relativ wenige Quellen zur Aminosäurezusammensetzung unveränderten menschlichen oder auch tierischen Knochenkollagens zu finden sind und diese in der Regel keine detaillierte Angaben zur methodischen Aufbereitung bzw. zur Messung der Proben enthalten (z.B. Ambrose 1993), obwohl sich dies fundamental auf die Aminosäureausbeute auswirken kann (vgl. 4.1.3.3), wurden in der vorliegenden Arbeit nur laborinterne Vergleiche gezogen.

So fielen hinsichtlich der Aminosäurezusammensetzung der frischen Referenzknochen bereits einige Besonderheiten auf, welche auch die in der Literatur angegebenen, an der Aminosäurezusammensetzung festgemachten Qualitätskriterien betrafen. Bevor auf potenzielle diagenetische

⁵⁰ Es ist nicht bekannt, ob der entsprechende Gewebespende an Diabetes litt. Diabetes verstärkt die nicht-enzymatische Glykation des Kollagens und erhöht damit die Resistenz des Moleküls gegen thermische und enzymatische Denaturierung (Gautieri et al. 2014, Monnier et al. 1984, Saito und Marumo 2010, 2013, Sroga et al. 2015). Um diese Hypothese zu untermauern, sollte in einem Anschlussprojekt der Effekt von Alter und Diabetes auf die Kollagen-Gewichtsausbeute nach der Extraktion anhand eines größeren Probenkollektivs frischer Spenderknochen gezielt untersucht werden, da dies auch Auswirkungen auf die Resistenz des Knochenkollagens gegen postmortale Degradation haben dürfte (siehe Punkt 5.4).

⁵¹ Es fiel auf, dass die frischen Rehknochen deutlich von den humanen Werten abwichen und Werte zwischen 3,06 und 3,18 annahmen. Damit lagen diese zwar auch in dem in der Literatur für gut erhaltenes Kollagen definierten Grenzwerten (siehe 1.5.1), jedoch zeigen die vorliegenden Ergebnisse, dass der molare C/N-Quotient sehr wahrscheinlich taxonbedingte Unterschiede aufweist (siehe auch Grupe et al. 2003), welche bei der Verwendung des molaren C/N-Verhältnisses als Qualitätskriterium für den Kollagenerhalt in der Regel vernachlässigt werden.

Veränderungen im Kollagen archäologischer Proben geschlossen werden kann, sollte zunächst die Variabilität innerhalb der frischen, diagenetisch unveränderten Knochen möglichst genau aufgeklärt sein.

Femur 1, der Knochen des jüngsten Spenders (Sterbealter 36 Jahre), hob sich in seiner detektierten Aminosäurezusammensetzung von den anderen beiden Individuen ab. So konnte bei einer Reihe von Aminosäuren eine deutliche Konzentrationsreduktion festgestellt werden. Neben den stark reduzierten Aminosäuren Threonin, Serin und Phenylalanin waren auch Asparaginsäure, Methionin, Phenylalanin, Histidin und Cystin betroffen.

Threonin, Serin, Phenylalanin, Methionin und Cystin können im Zuge der Hydrolyse leicht zerstört werden (Miller et al. 1965, Anhang c, Seite 319), daher könnte die Konzentrationsreduktion der Aminosäuren im Vergleich zu den anderen frischen Proben durch einen signifikanten Verlust während der Hydrolyse erklärt werden. Ein Messfehler wird ausgeschlossen, da auch alle Teilproben von Femur 1 des bakteriellen Degradationsexperiments dieselben Resultate zeigten. Es ist möglich, dass erneut das Alter der Spender und damit der Glykationsgrad des Kollagens eine Rolle spielte. Dies würde zu den Ergebnissen der Analyse des prozentualen Organikanteils der Proben passen, welcher bei Femur 1 relativ hoch und bei Femur 3 recht niedrig war. Dafür zeigte Femur 3 eine hohe Konzentration an Aminosäuren im hydrolysierten Organik-Extrakt, während Femur 1 die niedrigste Aminosäurekonzentration aufwies. Dies deutet darauf hin, dass ein selektiver, qualitativer Verlust bestimmter Aminosäuren erst im Zuge der Hydrolyse stattfand. Die Vermutung liegt daher nahe, dass das Kollagen des jüngsten Individuums aufgrund der fehlenden altersbedingten Sekundärvernetzung die vergleichsweise geringste Stabilität aufwies und damit empfindlicher auf die hydrolytische Spaltung reagierte als das Kollagen der älteren Spender.

Bei den jüngeren Individuen (juvenil-adult) des Kollektivs Westfriedhof konnte jedoch kein entsprechender Verlust der oben genannten Aminosäuren bestätigt werden. Allerdings könnte bei bodengelagerten Proben ein anderer Mechanismus greifen, eventuell eine sekundäre Stabilisierung des Moleküls durch Huminstoffe (vgl. auch Seite 187).

Bei der Beurteilung der Kollagenqualität anhand der Aminosäurezusammensetzung fiel weiterhin auf, dass die in der Literatur vorgegebenen Grenzwerte bestimmter Aminosäureverhältnisse in dieser Studie nicht anwendbar waren, da teilweise sogar die frischen Referenzknochen die Kriterien verfehlten (siehe 4.1.3.1). So waren die Konzentrationen von Prolin, Hydroxyprolin (jeweils teilweise erhöht), Glutaminsäure und Asparaginsäure (jeweils erniedrigt) bzw. deren Verhältnisse zueinander im Vergleich zu Literaturreferenzen verändert. Die Konzentrationen von Glutaminsäure und Asparaginsäure sind unter anderem von den Hydrolysebedingungen abhängig, da die neutralen Aminosäuren Glutamin und Asparagin im Zuge der sauren Hydrolyse zu Glutaminsäure bzw. Asparaginsäure oxidiert werden. Es wird jedoch für die vorliegende Studie von einer vollständigen Oxidation ausgegangen, da keine Asparagin- oder Glutaminpeaks in den Chromatogrammen beobachtet werden konnten. Es ist denkbar, dass ein Teil der sauren Aminosäuren während der Extraktion des Kollagens im Zuge des initialen Demineralisierungsschritts mit 1 M

HCl verloren ging, oder aber in anderen Studien größere Mengen nicht-kollagener Proteine mit-extrahiert wurden, welche reich an Glutamin- und Asparaginsäure sind (Hare 1980, Masters 1987).

Aus diesem Grund wurden nach der Einschätzung der Ergebnisse die Qualitätskriterien zur Anzeige von Veränderungen des Aminosäureprofils modifiziert und an die Resultate der frischen Referenzknochen angepasst.

Erkenntnisse aus der experimentellen hydrolytischen Degradation

Die Abnahme des anteiligen Organikgewichts in den experimentell hydrolytisch degradierten Proben folgte in etwa dem bereits in ähnlichen Studien beschriebenen Verlauf.

Anders als in der 2009 von Harbeck und Grupe veröffentlichten Arbeit nahm der prozentuale Kollagengehalt aller Proben jedoch nicht bereits nach 8, sondern erst nach 14 Tagen der Inkubation in heißem Wasser rapide ab. Dies ist vermutlich erklärbar durch die unterschiedliche Dicke der eingesetzten Knochenproben, welche in der vorliegenden Studie doppelt so hoch war wie in der Vergleichsarbeit von Harbeck und Grupe. Auffällig ist, dass sowohl die letztgenannten Autoren als auch Turner-Walker und Xu (2013) in ihrem Vortrag auf dem 7th Bone Diagenesis Meeting einen Einbruch der Werte um den 4. bis 8. Versuchstag und ein anschließendes erneutes Ansteigen verzeichneten. Da dies auch in der vorliegenden Studie beobachtet wurde, könnte von einem systematischen Effekt ausgegangen werden.

Es wird vermutet, dass das Kollagen unmittelbar nach Versuchsbeginn durch den hydrolytischen Effekt der Einwirkung des heißen Wassers geschädigt wurde. Die aggressiven Degradationsbedingungen führten zu einem Aufquellen der Tripelhelix und dadurch zu einer Auffaltung der Proteinstruktur, wodurch die stabilisierenden Quervernetzungen gespalten werden konnten (vgl. 1.3.1). Vermutlich war auch die Kollagen-Mineral-Schnittstelle von der hydrolytischen Spaltung betroffen. Wise et al. (2007) schreiben den Proteoglycanen und sauren Glycosaminoglycanen (GAGs) die tragende Rolle bei der Vermittlung der Verbindung zwischen organischer und anorganischer Phase im Knochen zu, da die Sekundärstruktur der Zucker zahlreiche Erkennungsstellen für das Wachstum hydratisierter Calciumphosphate aus gelösten Ionen aufweist. Polysaccharid-Sulfate und -Carboxylate sind in der Lage, mit Ca^{2+} -Ionen Chelate zu bilden. N-Acetylamido- und -hydroxylgruppen können wiederum mit protoniertem PO_4^{3-} , Wasser und OH^- binden. Im Zuge der Hydrolyse in heißem Wasser können diese Bindungen gespalten werden und die Mineralplättchen lösen sich vom Kollagen, was dieses wiederum angreifbarer für hydrolytische Reaktionen macht.

Es ist unwahrscheinlich, dass eventuell entstandene Polypeptidfragmente aufgrund der fehlenden Wasserzirkulation aus dem Knochen ausgeschwemmt wurden, da nach dem Einbruch des prozentualen Organikgewichts sowie der Anteile von Kohlenstoff und Stickstoff um den 8. Versuchstag ein erneuter Anstieg der Werte verzeichnet wurde, was auf eine sekundäre Stabilisierung des

Moleküls durch Umlagerungsreaktionen oder die Formierung neuer Quervernetzungen hinweisen könnte. Es wurde daher vielmehr ein Verlust von Teilen des vorgeschädigten Kollagens im Zuge der Extraktionsmethode vermutet.

Ab dem 16. Versuchstag, welcher den rapiden Abfall des Organikanteils sowie des prozentualen Kohlenstoff- und Stickstoffgehalts des Kollagens markierte, war die Fragmentgröße der Polypeptidsequenzen durch hydrolytische Spaltung vermutlich schließlich gering genug, dass größere Mengen organischer Substanz aus dem Gewebe austreten konnten. Da die %C- und %N-Werte simultan abfielen, dürfte dieser Vorgang unselektiv stattfinden und vielmehr ganze Abschnitte des Polypeptids betreffen als spezielle Aminosäuren. Dies wurde im Zuge der Aminosäureanalyse bestätigt.

Es fiel auf, dass die Konzentrationen der hydrophoben Aminosäuren (Valin, Leucin, Isoleucin, Methionin, Prolin) sowie die Anteile der kleinen Aminosäuren Glycin und Alanin insgesamt bis zum 20. Tag nur relativ geringe Schwankungen zeigten. Dafür variierten andere über den gesamten Versuchszeitraum in ihren Konzentrationen stark. Hydroxylysin schwankte bis zum 12. Inkubationstag sehr stark und nahm dann rapide ab. Der gleichzeitige Anstieg von Lysin lässt vermuten, dass dies eine Folge der sukzessiven Aufspaltung der Quervernetzungen des Moleküls im Zuge der Gelatinisierung sein könnte (vgl. 1.2.1.1). Auch Phenylalanin und Asparaginsäure zeigten sehr starke Schwankungen, die generell mit den Fluktuationen des prozentualen Kohlenstoffanteils korrespondierten. Der auffällige Einbruch der %C-, %N, C/N-molar- sowie $\delta^{15}\text{N}$ -Werte um den 4. und 14. Inkubationstag ging mit einer besonders starken Abnahme der Konzentrationen von Phenylalanin, Histidin und Asparaginsäure (Tag 4) bzw. Hydroxylysin und Asparaginsäure (Tag 14) einher.

Dies erklärt zwar die abnehmenden prozentualen Kohlenstoff- und Stickstoffanteile, jedoch nicht die isotopische Abreicherung (siehe 4.1.3.2, Seite 112 f.). Die in ihrer Konzentration reduzierten Aminosäuren sind in Bezug auf das schwere Stickstoffisotop abgereichert (Petzke et al. 2005) und müssten somit zu einer relativen Anreicherung des verbliebenen Proteins führen, ebenso wie der kinetische Isotopeneffekt⁵² (Bada et al. 1989).

Nicht alle Aminosäuren weisen dasselbe Isotopenverhältnis auf, was auf unterschiedliche Synthesewege zurückzuführen ist. Die Aminosäuren Valin, Isoleucin und Histidin werden nicht direkt aus Glucose aufgebaut, sondern werden über mehrere Zwischenstufen assembliert, was zu einer Abreicherung in Bezug auf das schwere Isotop führt (Balzer et al. 1997). Jedoch muss berücksichtigt werden, dass der relative Anteil der Aminosäuren am Gesamtkollagen, die keine oder kaum Konzentrationsveränderungen zeigen, mit etwa 70% deutlich höher ist als der Anteil der genannten stark reduzierten Aminosäuren. Somit ist eine merkliche Änderung des Isotopenverhältnisses auf dem Weg des selektiven Verlustes von quantitativ geringer im Kollagen vorkommenden Aminosäuren fraglich.

Im Fall von Femur 1, dem jüngsten Spender, bestand ein sehr starker Zusammenhang zwischen dem Gesamtgehalt an Aminosäuren im Extrakt und dem Einbruch der Kohlenstoff- und Stickstoffwerte, bei Femur 2 und 3 war dies weniger deutlich. Femur 1 verlor damit am 4. Inkubationstag

⁵² Chemische Reaktionen laufen mit den Molekülen, welche das leichte Isotop tragen, schneller ab als mit dem schweren Isotop.

etwa die Hälfte seiner Gesamtaminosäuren, am 14. Tag sogar 90 %. Es wird vermutet, dass im Zuge der Kollagenextraktion bereits durch Denaturierung vorgeschädigtes und damit destabilisiertes Kollagen im Zuge der Behandlung mit 1 M HCl bereits teilweise hydrolysiert wird, was zu einem Verlust bestimmter Aminosäuren bereits während der Extraktion führt. Dies wird dadurch gestützt, dass insbesondere die sauren oder ungeladenen Aminosäuren Asparaginsäure, Glutaminsäure, Serin und Threonin sehr starke Schwankungen über den Versuchszeitraum aufwiesen. Auch die basischen Aminosäuren (Histidin, Lysin, Arginin) zeigten deutliche Konzentrationschwankungen, was durch die leichte Löslichkeit der Aminosäuren während des Extraktionsschritts mit 0,125 M NaOH erklärt werden könnte. Dies würde ebenso erklären, weshalb die hydrophoben Iminosäuren Prolin und Hydroxyprolin die höchste Stabilität zeigten und am längsten nachweisbar waren. Der höhere Glycosylierungs- und damit Quervernetzungsgrad des Kollagens bei Femur 2 und 3 dürfte, wie bereits eingangs erwähnt, für die höhere hydrolytische Resistenz der Proben im Vergleich zu Femur 1 verantwortlich sein.

Kollagenveränderungen nach experimenteller bakterieller Degradation

Die intentionell bakteriell degradierten Proben zeigten insgesamt einen geringeren Organik-Gehalt als die frischen Referenzknochen. Die größte anteilige Verlustrate organischer Substanz war bei den mit *Pseudomonas fluorescens* beimpften Knochen zu beobachten. Da dies auch die am stärksten von Schimmelbildung betroffenen Proben waren, wird eine quantitative enzymatische Schädigung des Kollagens durch die mykotische Aktivität vermutet. Kollagenolytische Fähigkeiten sind für diverse ektomykorrhizale Pilze nachgewiesen, und insbesondere Vertreter der Gattung *Aspergillus* sind in der Lage, Proteine abzubauen (Barthomeuf et al. 1992, Carter und Tibbett 2008, Hanzi et al. 1993, Sukhosyrova et al. 2003). Speziell für *Aspergillus nidulans*, einer der potenziell auf dem Knochen aufgewachsenen Arten (siehe 5.1.2.2, Seite 185 f.), wurden effektive proteolytische Eigenschaften nachgewiesen (Saber et al. 2010). Dabei stimuliert UV-Licht, wie es für die Sterilisierung der Proben vor Versuchsbeginn angewendet wurde, sogar eine übermäßige Proteaseproduktion (Katz et al. 1996). Ähnlich wie bei der hydrolytischen Schädigung des Kollagens wird vermutet, dass das vorgeschädigte Polypeptid im Zuge der Kollagenextraktion teilweise verloren ging und dies so zu einer Reduktion des gemessenen prozentualen Kollagenanteils am Knochengewicht führte.

Die in einigen anaerob kultivierten Proben festgestellte Erhöhung des prozentualen Organik-Gewichts im Vergleich zu den Referenzproben kann durch drei mögliche Mechanismen erklärbar sein:

Eine Möglichkeit ist die Mitextraktion von mikrobiellen organischen Bestandteilen im Zuge der Kollagen-Aufreinigung, jedoch sollten diese durch die Gelatinisierung und anschließende Filtration des Proteins vom Extrakt abgetrennt werden. Eine quantitative Kontamination mit Fremdprotein gilt daher als eher unwahrscheinlich. Auch hätten derartig starke Verunreinigungen durch die Aminosäureanalyse detektiert werden müssen, aber die entsprechenden Proben wiesen dort keine Auffälligkeiten auf.

Ein weiterer Grund für eine Zunahme des anteiligen Kollagengewichts kann eine Abnahme des prozentualen Anorganik-Anteils des Knochens sein, jedoch war auch hier keine direkte Korrelation mit der Gewichtsausbeute der deproteinierten Knochenmatrix zu erkennen.

Analog zu den beobachteten Differenzen der Extraktionsausbeute organischer Moleküle zwischen den drei frischen Spenderknochen (siehe Seite 192 f.) könnte jedoch auch der Abbau von Zuckermolekülen durch die Mikroorganismen eine Rolle spielen, was dem Karamellisierungseffekt und damit quantitativen Verlusten während der Extraktion entgegenwirken könnte.

Der absolute Grund für die Zunahme des anteiligen Gewichts der organischen Fraktion kann jedoch nicht endgültig geklärt werden.

Im Vergleich zu den frischen Referenzknochen wurden einige Abweichungen in den prozentualen Kohlenstoff- und Stickstoffanteilen des Kollagens deutlich, wobei der Kohlenstoff- und Stickstoffgehalt meist simultan anstieg oder abnahm. Die signifikant erniedrigten % C- und % N-Werte der mit *Streptomyces griseus* beimpften Probe von Femur 2 weisen auf einen quantitativen Verlust von organischer Substanz aus dem Knochen durch die Aktivität der Bakterien hin. Die von *S. griseus* sekretierte Serin-Protease ist ein hoch effektives Enzym, welches in der Lage ist, alle Arten von Peptidbindungen in einem Protein zu spalten, um die freigesetzten Aminosäuren für die Stoffwechselung nutzbar zu machen (Nomoto et al. 1960). Da das Aminosäureprofil der entsprechenden Probe nur wenig Auffälligkeiten zeigte, ist davon auszugehen, dass die zur Verfügung stehenden Aminosäuren des Kollagens nicht selektiv, sondern quantitativ genutzt wurden.

In sechs weiteren Proben wurde ein Anstieg des Kohlenstoff- und Stickstoffgehalts beobachtet, was auf eine Kontamination mit organischer Fremdschubstanz hinweisen könnte, welche im Zuge der Extraktion nicht entfernt werden konnte. Ob die Kontaminationen von den angeimpften Bakterien und/oder dem teilweise aufwachsenden Schimmel hervorgerufen wurden, kann nicht näher eingegrenzt werden, da sowohl eine unter anaeroben Bedingungen inkubierte Kontrolle als auch ein mit *S. griseus* beimpfter Knochen, welcher keine Schimmelbildung zeigte, betroffen waren. Die Aminosäureanalyse lieferte in diesem Zusammenhang jedoch keinen Hinweis auf mikrobielle Zellwandbestandteile.

Im Schnitt konnte aber in den Konzentrationen fast aller Aminosäuren ein Rückgang im Vergleich zu den frischen Ausgangsproben beobachtet werden, lediglich im Fall von Glycin, Alanin, Valin und Methionin nahmen die Konzentrationen teilweise stark zu. Es ist denkbar, dass dies den Resten bakterieller Bestandteile zu schulden ist. Dabei könnte es sich um den Proteinanteil des bakteriellen Lipoproteins Murein handeln, da dieses hohe Alaninkonzentrationen enthält (Braun und Rehn 1969). So sind die Zellwandbestandteile von *Streptomyces* und *Aspergillus* hauptsächlich aus Glycin, Glutaminsäure, Alanin, Serin und Asparaginsäure aufgebaut (Yamaguchi 1965). Ebenso ist nicht klar, in welchen Konzentrationen mikrobielle Enzyme wie alkalische Proteasen, welche im Zuge des Kollagenabbaus sekretiert werden, im Laufe der Extraktion persistieren und so Aminosäuren in das Extrakt eintragen können (z.B. Sukhosyrova et al. 2003).

Die unter aeroben Bedingungen inkubierte, stark verschimmelte Kontrolle von Femur 3 zeigte neben der auffälligen Konzentrationsreduktion der meisten Aminosäuren, darunter neben dem

kohlenstoffreichen Tyrosin auch die stickstoffreichen Aminosäuren Histidin und Arginin, eine extreme Erhöhung des Valin-Werts, welcher den in anderen Proben gemessenen Wert um etwa das Fünffache überstieg. Dies deutet auf eine mutmaßliche Produktion von Penicillin durch den aufwachsenden Schimmelpilz hin (siehe auch 5.1.2.2, Seite 185).⁵³ Eine erhöhte Cysteinkonzentration (gemessen als Cystin) konnte in der entsprechenden Probe jedoch nicht beobachtet werden. Vermutlich ging die hydrophile Aminosäure im Zuge der Probenaufbereitung verloren, während das hydrophobe Valin in größeren Mengen zurückblieb.

In der entsprechenden Probe konnten, trotz deutlicher Auffälligkeiten im Aminosäureprofil, nahezu keine Abweichungen hinsichtlich der Parameter % C, % N sowie C/N-molar beobachtet werden, obwohl der prozentuale Organik-Anteil signifikant reduziert war. Dies könnte das Problem andeuten, dass diese Werte lediglich die Gesamtbilanz von Kohlenstoff und Stickstoff im Proteinextrakt reflektieren, ungeachtet der Qualität und des Ursprungs der Komponenten. Erreicht die Kohlenstoff- und Stickstoffbilanz durch Degradation und Kontamination den Ausgangswert, ist so eine Veränderung an der Probe nicht ersichtlich. Die Isotopenwerte von Kohlenstoff und Stickstoff zeigten sich jedoch jeweils ebenso unbeeinflusst.

Balzer et al. (1997) sowie Grupe und Turban-Just (1998) beschrieben in ihren Studien, dass Bakterien vorzugsweise die energiereichen, stark kohlenstoffhaltigen Aminosäuren Phenylalanin, Tyrosin und Tryptophan nutzten. Dies konnte in dem vorliegenden Projekt nur eingeschränkt beobachtet werden. Zwar zeigte die Hälfte der 18 Proben eine Reduktion des Tyrosins, jedoch war Phenylalanin nur in einer Probe von einem deutlichen Konzentrationsrückgang betroffen. Die Bewertung der Tryptophankonzentration ist problematisch, da diese Aminosäure sehr empfindlich gegen Zerstörung während der Hydrolyse zur Probenvorbereitung der Aminosäureanalyse ist (Liu und Chang 1971). Auch ein gezielter Abbau von Arginin, wie er für *Streptomyces griseus* beschrieben ist (Meister 1965), konnte nicht beobachtet werden. Die deutlichsten Verluste konnten in den Konzentrationen von Hydroxylysin festgestellt werden, dies betraf alle untersuchten Proben. Eventuell kann dies als Hinweis auf eine hydrolytische Spaltung der Kollagen-Quervernetzungen durch die Aktivität der Mikroorganismen gewertet werden. Da auch die Kontrollen betroffen waren, muss auch der kontaminierende Schimmel einen degradativen Einfluss auf die Struktur des Moleküls ausgeübt haben.

Der statistische Zusammenhang zwischen den Aminosäuren Threonin, Serin, Tyrosin und Phosphoserin kann eventuell durch die Einwirkung alkalischer Phosphatasen mikrobiellen Ursprungs erklärt werden. Die Phosphorylierung von Threonin, Serin und Tyrosin stellt eine wichtige posttranslationale Modifikation in eukaryotischen Proteinen dar (Macek et al. 2007). Zahlreiche Mikroorganismen sind in der Lage, mithilfe alkalischer Proteasen, wie beispielsweise der von *Streptomyces griseus* exprimierten Serin-Protease, die Aminosäuren im Zuge der Spaltung des Moleküls zu dephosphorylieren (Gupta et al. 2002). Entsprechend konnte eine Erniedrigung der Phosphoserin-Konzentration mit einem Anstieg von Serin in Verbindung gebracht werden.

Zwar konnte statistisch keine Verbindung zwischen dem Verlust bestimmter Aminosäuren und der Inkubationsart bzw. Bakterienspezies hergestellt werden, jedoch zeigte sich im Rahmen der

⁵³ Penicillin wird von bestimmten Schimmelpilzen durch die Kondensation der Aminosäuren Valin und Cystein gebildet (Löffler 2003).

Isotopenanalyse, dass hauptsächlich die unter anaeroben Bedingungen kultivierten Proben von Femur 3 und 1 eine Veränderung des $\delta^{13}\text{C}$ -Werts mit Anreicherung des schweren Isotops aufwiesen. Die Probe von Femur 3 zeigte zudem ebenso ein deutlich erniedrigtes C/N-Verhältnis sowie erhöhte Gewichtsanteile der organischen Fraktion.

Laut Balzer et al. (1997) sollte ein Verlust der über lange Synthesewege mit diversen Zwischenstufen aufgebauten Aminosäuren, welche hinsichtlich des schweren Kohlenstoffisotops angereichert sind, zu einer Anreicherung des verbliebenen Substrats führen. Die direkt aus Glucose aufgebauten Aminosäuren Alanin, Serin, Glycin, Glutaminsäure und Asparaginsäure sollten isotopisch schwerer sein (vgl. weiter oben, Seite 196 f.). Lediglich bei der unter anaeroben Bedingungen inkubierten Kontrolle von Femur 3 könnte die Anreicherung des schweren Kohlenstoffisotops sowie das Abfallen des molaren C/N-Quotienten über den Verlust von Threonin, Serin, Phenylalanin und Histidin erklärt werden. Bei den restlichen Proben erfolgte eher eine Konzentrationszunahme der meisten Aminosäuren, was auf eine Kontamination mit mikrobiellen Bestandteilen hinweisen dürfte, welche vergleichsweise reich an ^{13}C gewesen sein mussten.

Das molare C/N-Verhältnis der intentionell mit Bakterien beimpften Knochen zeigte sich insgesamt sehr stabil ($2\sigma = 0,05$) und wich nur in einem Fall im Vergleich zu den frischen Knochen leicht nach unten ab (Femur 3, NK anaerob), wobei hier auch der prozentuale Kohlenstoffanteil etwas reduziert und der Stickstoffanteil erhöht waren. Dagegen wiesen jene Proben, bei welchen wesentlich deutlichere Verschiebungen des prozentualen Kohlenstoff- und Stickstoffgehalts festgestellt wurden ($> 15\%$), keine veränderten molaren C/N-Werte auf (siehe Seite 109 f.). Dies lässt die Problematik erkennen, dass der molare C/N-Wert als reines Verhältnis ungeeignet ist, strukturelle Veränderungen der organischen Matrix zu erfassen, sofern Kohlenstoff und Stickstoff in dergleichen Relation verloren gehen bzw. in das Gewebe eingetragen werden.

Kollagenerhalt nach kurzen Liegezeiten bei Erdbestattung

Bei den beiden bodengelagerten Stichprobenkollektiven wurde ein deutlicher Unterschied zwischen den frühdiagenetisch beeinflussten und den archäologischen Proben beobachtet, wobei die prozentualen Gewichtsmaxima der organischen Knochenfraktion in beiden Probenkollektiven nahezu gleich waren (WF 41 und KE 192, siehe Tabelle 4.2, Seite 105).

Durchschnittlich wiesen die Proben der frühen Diagenese phase jedoch eine fast doppelt so hohe Kollagenausbeute auf wie die archäologischen Knochen. Die Liegezeit zeigte insgesamt einen hoch signifikanten Zusammenhang mit dem anteiligen Kollagengehalt der Knochen, da die ältesten Proben tendenziell die niedrigste Gewichtsausbeute lieferten. Dies galt jedoch nicht bei getrennter Betrachtung der einzelnen Probenkollektive.

So wurde der niedrigste prozentuale Kollagengehalt der Proben des Westfriedhofs in den Knochen mit sehr kurzer Liegezeit festgestellt (9 bis 21 Jahre). Eventuell folgt diese Beobachtung demselben Prinzip wie der initiale Einbruch der prozentualen Kollagenausbeute in den experimentell hydrolytisch degradierten Proben (siehe Seite 195 ff.). Vermutlich werden die Kollagenstruktur

bzw. die Kollagen-Mineral-Schnittstelle durch den Einfluss des im Zuge der Dekomposition entstehenden sauren Umgebungsmilieus durch den Abbau des Weichgewebes und die Spaltung der Quervernetzungen geschwächt, woraufhin Teile des Moleküls im Zuge der Extraktion verlorengehen. Auch die Aminosäureanalyse deutete in diese Richtung.

Insgesamt wurden für einige Aminosäuren starke Konzentrationsschwankungen beobachtet. Im Fall der Proben vom Westfriedhof waren dies Glycin und Glutaminsäure, während bei den archäologischen Proben außerdem auch Hydroxyprolin, Prolin, Alanin und Arginin betroffen waren. Die frischen Referenzknochen wiesen dabei eine im Schnitt doppelt so hohe Aminosäurekonzentration auf wie die Proben des Westfriedhofs, was darauf hindeutet, dass es bereits kurz nach der Bestattung ein deutlicher Verlust von Aminosäuren aus dem Kollagen zu verzeichnen ist.

Entsprechend des quantitativen Einbruchs der säurelöslichen bzw. hydrophilen Aminosäuren zu Beginn des hydrolytischen Degradationsexperiments waren besonders in den Proben des Westfriedhofs mit kürzerer Liegezeit korrespondierende Aminosäureverluste zu beobachten. Im Gegensatz zur im Labor kontrolliert durchgeführten hydrolytischen Degradation zeigten die basischen Aminosäuren Histidin, Lysin und Arginin bei der *in situ* Degradation insgesamt aber nur geringere Verluste, jedoch gehen besonders Lysin und Arginin bevorzugt Vernetzungsreaktionen mit anderen organischen Verbindungen (Maillard-Reaktionen) ein (Thorpe und Baynes 2003) und könnten somit durch die Verbindung mit Huminstoffen aus dem Bestattungsmilieu stabilisiert worden sein.

Nach Abschluss der Weichgewebszersetzung und der Neutralisierung des Umgebungsmilieus muss eine sekundäre Restabilisierung des Kollagens stattgefunden haben, welche dieses unempfindlicher gegen die Extraktionsprozedur werden ließ, ebenso in Entsprechung zu den bei der experimentellen hydrolytischen Degradation gemachten Beobachtungen (siehe Seite 195 ff.). Dies ist umso wahrscheinlicher, da bei der Untersuchung des tierischen Vergleichskollektivs dieselben Beobachtungen gemacht werden konnten. Dort war der geringste Kollagengehalt bei den Proben des ersten Auslegungszeitraums feststellbar, während er in den Proben des zweiten Beprobungsintervalls höher lag.

Ein Zusammenhang zwischen den Schwankungen in den Aminosäurekonzentrationen mit dem Sterbealter der Individuen bestand jedoch nicht, weshalb der Einfluss des Glycosylierungsgrads des Kollagens auf die Stabilität des Moleküls bei Bodenlagerung wiederum nicht bestätigt werden konnte.⁵⁴

Ein Zusammenhang zwischen Schwankungen in den Aminosäurekonzentrationen sowie Weichgewebsresten und/oder organischen Kontaminationen in Form von Pilzsporen und Nematoden konnte nicht hergestellt werden. Lediglich im Fall der Probe WF 20b, welche sowohl starke Anzeichen von Pilz- als auch Nematodenbefall zeigte, waren zahlreiche Aminosäuren stark in ihrer Konzentration reduziert.

⁵⁴ Es ist jedoch nicht klar, inwieweit die Mitextraktion nicht-kollagener Proteine die Schwankungen in den Glycin- und Glutamatkonzentrationen beeinflusst (vgl. van Klinken 1999). Nicht-kollagene Proteine sind reich an Glutamin- und Asparaginsäure (Hauschka et al. 1989, Masters 1987). Jedoch ist es aufgrund der Beobachtungen in der experimentellen hydrolytischen Degradation wahrscheinlich, dass diese aufgrund der hohen Säurelöslichkeit ebenso im Zuge der Kollagenextraktion zerstört und nicht mehr im Extrakt detektiert werden. Ebenso sollten im Zuge der Gelatine-Extraktion nicht-kollagene Proteine mehrheitlich abgetrennt werden (vgl. 3.5).

Nur das Dipeptid Carnosin (β -Alanyl-L-Histidin) zeigte deutlich erhöhte Werte, ebenso wie dessen Bestandteil β -Alanin. Eine Ursache für die erhöhten Carnosin-Werte konnte zunächst nicht gefunden werden, da eine Literaturrecherche keine Belege für eine Sekretion von Carnosin durch Mikroorganismen oder Nematoden ergab. Jedoch existieren Studien, welche eine erhöhte Carnosin-Serumkonzentration mit einer Diabetes mellitus I und II-Erkrankung in Verbindung bringen. So fungiert Carnosin als natürlicher ACE-Hemmer⁵⁵ (Hipkiss 1998, Hou et al. 2003), Radikalfänger und AGE⁵⁶-Inhibitor (Hipkiss et al. 2002) und bewirkt somit einen Schutz von Proteinen vor übermäßiger Glykation bei Diabetes-Erkrankungen (Janssen et al. 2005). Es ist daher in Betracht zu ziehen, dass das Individuum an Diabetes litt, was auch durch die histologische Beobachtung von schwerer Knochenresorption unterstützt würde. So tritt bei Dialysepatienten sehr häufig die sogenannte adyname renale Knochenkrankheit (low bone turnover disease) auf (Brandenburg und Floege 2009), welche durch einen extrem verlangsamten Knochenumbau infolge einer verminderten Mineral- und Osteoidsynthese gekennzeichnet ist und mit einer Reduzierung des Knochenvolumens einhergeht (Lehmann et al. 2008). Die adyname renale Knochenkrankheit ist ein häufiges Erscheinungsbild als Folgeerscheinung von Diabetes mellitus und auch im Alter und gilt als typischer Knochenstatus bei Urämie⁵⁷ (Brandenburg und Floege 2008).

Eventuell ist der erhöhte Zuckergehalt des Gewebes auch ursächlich für die massive Besiedlung des Knochens mit Pilzen und Nematoden, da Zucker einen wertvollen Energieträger darstellt.

Für jene Proben, welche Auffälligkeiten in den prozentualen Anteilen von Kohlenstoff und Stickstoff im Kollagen zeigten, konnten die Abweichungen anhand der Aminosäureanalyse teilweise interpretiert werden. Im Fall der frühdiagenetisch beeinflussten Proben wiesen zwei Knochen eine deutliche Erhöhung des prozentualen Kohlenstoff- und Stickstoffgehalts auf, obwohl die Aminosäureanalyse eine Reduktion zahlreicher Aminosäuren ergab. Diese Beobachtung konnte auch bei den tierischen Vergleichsknochen gemacht werden.⁵⁸

Individuum WF 3, welches nach einer Liegezeit von nur 10 Jahren untersucht wurde, wurde der bereits mehrfach diskutierte Verlust der säurelöslichen Aminosäuren beobachtet, welcher die Theorie der initialen Schädigung des Moleküls im Zuge der Weichgewebsdekomposition den und dadurch bedingten anschließenden Extraktionsverlusten während der sauren Demineralisierung unterstützt. Die dennoch erhöhten % C- und % N-Werte könnten auf die Persistenz von Weichgewebsresten und Fettwachs im Extrakt hindeuten (vgl. van Klinken 1999) bzw. auf die Präsenz größerer Mengen an Putrescin und Cadaverin, auf welche in der Aminosäureanalyse nicht getestet wurde. Die leicht erhöhte Konzentration von γ -Aminobuttersäure (GABA) könnte dies

⁵⁵ Angiotensin-Converting-Enzyme, Blutdruckregulation

⁵⁶ Advanced-Glycation-Endproduct

⁵⁷ terminale Niereninsuffizienz

⁵⁸ Hier stiegen ebenfalls im Gegensatz zum prozentualen Organikgewicht die Anteile von Kohlenstoff und Stickstoff am Knochenkollagen zum ersten Beprobungsintervall zunächst an und blieben schließlich bis zum Ende des Experiments in etwa konstant, was für eine nicht-kollagene Kontamination des Knochens bei gleichzeitigem Verlust von Kollagen spricht. Die Aminosäureanalyse lieferte jedoch keine zwingenden Anhaltspunkte für die Art der Kontamination. Die Aminosäureprofile der unbestatteten Rehknochen zeigten sich über den Versuchszeitraum in der Regel relativ konstant. Der Totalausfall von Glutaminsäure in einigen Proben, welcher auch in zwei der frischen Referenzknochen beobachtet werden konnte, zeigte keinen Zusammenhang mit dem Alter der Tiere und kann daher nicht auf Glykationsunterschiede des Kollagens und damit einhergehende Unterschiede in der Angreifbarkeit des Moleküls und potenzielle Extraktionsverluste zurückgeführt werden. Daher kann ein Messfehler hinsichtlich des Glutaminsäurepeaks nicht ausgeschlossen werden.

unterstützen, da Putrescin im Zuge der Hydrolyse durch oxidative Deamination in GABA umgewandelt werden kann (Meister 1965).

Bei der zweiten auffälligen Probe, WF 30, waren weit mehr Aminosäuren in ihren Konzentrationen reduziert, auch die hydrophoben und basischen Moleküle Isoleucin, Methionin, Arginin und Histidin. Die Liegezeit betrug 19 Jahre. Neben einer ebenfalls erhöhten GABA-Konzentration konnten auch stark erhöhte Werte für Ornithin festgestellt werden. Sell und Monnier (2004) fanden heraus, dass mit zunehmendem Alter des Gewebes verstärkt Arginin in Ornithin umgewandelt wird, was zu dem mit 91 Jahren sehr hohen Individualalter passen würde. Jedoch zeigte das mit 95 Jahren älteste Individuum des Kollektivs diesen Trend nicht. Es ist schwierig, den beobachteten Aminosäureverlust und gleichzeitigen Anstieg der prozentualen Anteile von Kohlenstoff und Stickstoff abschließend zu klären.

Sowohl im Fall von WF 3 als auch von WF 30 wurden starke arthrotische Veränderungen an den Kniecondylen der beprobten Knochen festgestellt. Ding et al. (2001) fanden heraus, dass die Kollagendichte in kompaktem Knochen mit arthrotischen Veränderungen als Konsequenz des Ausbleibens adäquater biomechanischer Belastung erhöht ist. Eventuell wirkt sich dies auf die strukturelle Organisation des Kollagens bzw. die Repräsentanz von nicht-kollagenen Proteinen im Knochen und damit die Kohlenstoff- und Stickstoffbilanz des Extrakts aus.

Hinsichtlich des molaren C/N-Verhältnisses, dem am häufigsten in der Praxis angewandtem Qualitätsindikator für den Erhaltungszustand von Kollagen, war ein prinzipieller Unterschied zwischen den frühdiagenetisch beeinflussten und den archäologischen Knochen auszumachen.

Abgesehen von der breiteren Verteilungsspanne des archäologischen Materials hinsichtlich des molaren C/N-Quotienten (Maximum 3,62, BrA 3) fiel auf, dass jene Proben mehrheitlich den oberen Grenzwert der frischen Referenzknochen ($C/N = 3,35$) überschritten, während die frühdiagenetisch veränderten Proben diesen ausnahmslos und zum Teil sehr deutlich unterschritten. Bis auf eine Ausnahme befanden sich alle Proben in dem in der Literatur für gut erhaltenes Kollagen definierten C/N Wertebereich zwischen 2,9 und 3,6 (vgl. 1.5.1), lediglich das Individuum WF 40b verfehlte mit einem molaren C/N-Quotienten von 2,8 diesen Grenzwert. Die beobachtete Erniedrigung des Quotienten ging dabei mit einer Reduktion der relativ kohlenstoffreichen Aminosäuren Hydroxyprolin, Methionin und Tyrosin einher, die Konzentration von Isoleucin war erhöht. Einige Mikroorganismen sind in der Lage, Isoleucin in Fettsäuren einzubauen (Lennarz 1961). Da die Probe die Persistenz von Fettwachs innerhalb des Querschnitts aufwies, ist es möglich, dass auf diese Weise aus anderen Proteinen stammendes Isoleucin in die Fettsäuren inkorporiert wurde. Die Reduktion der anderen Aminosäuren könnte somit auf bakteriellen Abbau hindeuten, jedoch zeigte die histologische Untersuchung so gut wie keine Anzeichen von bakteriellem Angriff. Auch hier wurde das Problem deutlich, dass, obwohl etliche Proben starke Änderungen des Kohlenstoff- und Stickstoffgehalts des Kollagens aufwiesen (siehe auch Seite 195 ff., experimentelle bakterielle Degradation), das molare C/N-Verhältnis nicht von der Norm abwich, da oft beide Parameter in gleichem Maß durch Kontamination zu- oder durch Degradation abnahmen.

Alle C/N-Werte der frühdiagenetisch beeinflussten Proben, welche sich unterhalb der durch die frischen Referenzknochen gesetzten Grenze von 3,2 befanden und somit einen potenziellen Nettoeintrag von Kohlenstoff aufweisen sollten, zeigten entweder Reste organischer Substanz innerhalb des Knochens in Form des vaskulären Systems, persistierendes Fettwachs oder exogene organische Kontamination in Form von Pilzsporen oder Nematoden. Dies unterstreicht, dass diese nicht-kollagenen Verunreinigungen, welche zu einer Erhöhung der Kohlenstoffbilanz des analysierten organischen Extrakts führten, im Zuge der Extraktionsmethodik nicht vollständig eliminiert werden konnten (Brock et al. 2013, van Klinken 1999). Diese konnten jedoch auch im Zuge der Aminosäureanalyse nicht immer nachgewiesen werden.

Kollagenerhalt im archäologischen Probenkollektiv

Aminosäureverluste zeigten sich innerhalb der archäologischen Proben hauptsächlich in der Reduktion von Glutaminsäure, Asparaginsäure und Serin. Unklar ist, ob es sich dabei um Verluste während der diagenetischen Geschichte des Knochens oder um ein Extraktionsartefakt handelt (siehe oben, Seite 195 f.). Laut Hare (1980) und Masters (1987) sollte bei einem Verlust von mehr als 98 % des Knochenproteins das verbliebene Extrakt eine Anreicherung von Asparagin- und Glutaminsäure zeigen, was auf der verstärkten Detektion der konservierten nicht-kollagenen Proteine oder eine Kontamination mit exogenem Material zurückzuführen sein soll, jedoch konnte dies hier nicht bestätigt werden. Entsprechend der Proben des Westfriedhofs zeigten sich die Konzentrationen von Lysin und Arginin insgesamt relativ stabil, was auch hier eventuell durch die Bildung von Kondensationsprodukten mit Huminstoffen im Zuge von Maillard-Reaktionen erklärt werden könnte.

Einige Proben wiesen deutlich erhöhte Alanin-Konzentrationen auf, was prinzipiell für eine Verunreinigung des Extrakts mit bakteriellen Zellwandbestandteilen sprechen würde, da diese reich an Alanin sind (Braun und Rehn 1969, vgl. Seite 198). Jedoch sollten in diesem Fall auch die Konzentrationen von Glutaminsäure, Serin und Glycin entsprechend erhöht sein. Für Glycin traf dies auch zu, die anderen Aminosäuren waren jedoch teilweise drastisch reduziert. In einem Fall (KE 145) waren besonders die kohlenstoff- und stickstoffreichen Aminosäuren Tyrosin, Phenylalanin und Histidin reduziert, was die Theorie unterstützen würde, dass Mikroorganismen unter Umständen bevorzugt die energiereichen Aminosäuren selektiv abbauen, während sich die kleinen Aminosäuren im verbliebenen Substrat anreichern (Balzer et al. 1997, Grupe und Turban-Just 1998). In allen anderen Fällen konnte dies jedoch nicht bestätigt werden.

Insgesamt zeigte sich hinsichtlich des Verlusts von Aminosäuren eine gewisse Fundortspezifität. So lieferten die Knochen aus Burgweinting, Bruchsal, Maisach und Freiham die geringste Aminosäureausbeute. Zumindest im Fall der Proben aus der Münchner Schotterebene (Maisach, Freiham) kann von einer starken diagenetischen Belastung des Gewebes aufgrund der Drainagewirkung des Liegemilieus ausgegangen werden, welche die hydrolytische Spaltung des Kollagens und eine Ausschwemmung der Peptidfragmente aus dem Knochen befördert (siehe 1.3.3.1). Über die

Beschaffenheit der bestattungsrelevanten Sedimentschichten der anderen Fundorte ist zu wenig bekannt, jedoch kann hier aufgrund des Zustands des Kollagens bzw. der Aminosäurezusammensetzung von ähnlichen Mechanismen ausgegangen werden.

Auffallend war, dass innerhalb des archäologischen Probenkollektivs sehr viele Proben einen hohen bis sehr hohen Carnosin-Gehalt aufwiesen ($n = 13$, siehe 4.1.3.3, Seite 124 und Anhang, Tabelle 8.8), unter anderem das bereits im Zuge der morphologischen Befundung mit Diabetes in Verbindung gebrachte Individuum aus Sulzbach (SB 626, siehe 2.2.7). Dies würde zu der bereits weiter oben diskutierten möglichen Ursache der erhöhten Carnosin-Werte des Individuums WF 20b des Kollektivs Westfriedhof passen (vgl. S. 202 f.). Eine potenzielle Diabetes-Erkrankung ist auch ein denkbare Szenario bei Individuum OTZ 1, bei welchem bereits histologisch zahlreiche Haltelinien in der Mikrostruktur auch innerhalb des mittleren Compactabereichs beobachtet wurden. Diese könnten auf eine renale Funktionsstörung hindeuteten, wie sie sekundär bei einer Diabetes-Erkrankung auftreten kann.⁵⁹

Der retardierte Knochenumbau, welcher bei OTZ 1 neben den Haltelinien festgestellt wurde, könnte weiterhin auf eine längere Immobilisierungsphase hindeuten, im Zuge derer die biomechanischen Reize für eine normale Knochenentwicklung ausblieben. Die Ursache hierfür könnte eventuell auf eine kongenitale Stoffwechselerkrankung zurückzuführen sein, da keine mechanischen Defekte an den Knochen erkennbar waren. Auffälligkeiten in der Zusammensetzung des Gewebes sind nach diesen Befunden nicht überraschend.

Bei den übrigen 11 Individuen mit erhöhten Carnosin-Werten konnte nicht ohne weiteres auf eine Diabetes- oder sonstige Stoffwechselerkrankungen geschlossen werden. Es ist jedoch auffällig, dass bestimmte Fundorte verstärkt repräsentiert sind, darunter Altdorf, Regensburg-Minoritenweg, Manching-Pichl sowie Kempten. Wenn auch Diabetes-Erkrankungen in der Neuzeit stark zugenommen haben, ist die Krankheit in ihrer Symptomatik bereits seit der Antike bekannt (Schadewaldt 1975). Es ist durchaus denkbar, dass dem gehäuftem Auftreten innerhalb einer Population eine genetische Komponente zugrunde liegt, welche die Prävalenz bei entsprechender epigenetischer Modulation durch kohlenhydratreiche Ernährung ansteigen ließ.

Bei den archäologischen Proben zeigte lediglich Alt 240 eine deutliche Erhöhung des prozentualen Kohlenstoffgehalts, wobei der Stickstoffanteil unauffällig war. Dies deutet prinzipiell auf den Eintrag von organischem Fremdkohlenstoff in den Knochen hin, wobei nach der histologischen Untersuchung Huminstoffe als Kontaminationsquelle nicht in Frage kommen. Denkbar wäre eine massive Kontamination durch bakterielle Peptidoglykane, welche durch die Extraktion nicht entfernt werden konnten, da sie potenziell an das Kollagen binden können (Beg et al. 2002).

⁵⁹ Haltelinien entstehen durch den kurzfristigen Stopp des Dickenwachstums des Knochens (Herrmann und Danielmeyer 1994), woraufhin sich eine Linie hypermineralisierten Gewebes im Knochenquerschnitt abzeichnet. Als Gründe dafür gelten neben Hungerkrisen und der verminderten Aufnahme bzw. des erhöhten Bedarfs von Mineralien und Nährstoffen (Herrmann und Danielmeyer 1994) auch chronische metabolische Probleme (Alder et al. 2011). Schultz (2001) weist darauf hin, dass die in Langknochen sichtbaren Haltelinien im Normalfall im Zuge des kontinuierlichen Knochenremodelings relativ schnell umgebaut werden. Ist dies nicht der Fall, stehen sie wahrscheinlich in unmittelbarem Zusammenhang mit dem Tod des Individuums.

Jedoch wurde diese Vermutung durch die Aminosäureanalyse nicht gestützt, da dies erhöhte Konzentrationen von Alanin und Glutaminsäure nach sich ziehen müsste (Schleifer und Kandler 1972).⁶⁰ Bei den übrigen archäologischen Proben zeigte sich eine simultane Abnahme des Kohlenstoff- und Stickstoffgehalts, was mit der Reduktion besonders der sauren und hydrophilen Aminosäuren in Zusammenhang stand. Daher ist hier ein Verlust der Aminosäuren in Folge einer starken hydrolytischen Vorschädigung bzw. Fragmentierung des Moleküls innerhalb des Knochens während der Extraktionsprozedur anzunehmen.

Auch bei selektivem Abbau bestimmter Aminosäuren, wie es beispielsweise im Fall von KE 145 beobachtet wurde, wird nicht unbedingt von einer Beeinflussung der *in vivo* erworbenen Isotopensignatur des Kollagens ausgegangen, da die in ihrer Konzentration reduzierten Aminosäuren ohnehin meist in nur einen geringen Anteil an der Gesamtzusammensetzung des Polypeptids ausmachen und daher vermutlich nicht zu einer gravierenden Veränderung der Isotopensignatur beitragen können. Die Ergebnisse der experimentellen hydrolytischen Degradation zeigten ebenso, dass die Ausgangsisotopenwerte in der Regel über einen langen Zeitraum konstant blieben, bis es zu massiven, substanziellen Aminosäureverlusten als Konsequenz der hydrolytischen Schädigung kam (siehe 4.1.3.2, Seite 112 f. und 4.1.3.3, Seite 126 ff.). Erst der quantitative Verlust der Hauptbestandteile des Polypeptids, Glycin, Prolin, Hydroxyprolin, Alanin und Glutaminsäure, zeigte deutliche Auswirkungen auf das Verhältnis der stabilen Isotope von Kohlenstoff und Stickstoff.

Bei den archäologischen Proben, welche nach den Kriterien unter Punkt 4.4.1 (Seite 172 f., siehe insbesondere auch 5.3.2) als potenziell hinsichtlich der Elemente Kohlenstoff und Stickstoff isotopisch verändert eingestuft wurden, traten meist deutliche Verluste der mengenmäßig dominant vertretenen Aminosäuren des Kollagens auf, was eine Verschiebung der Isotopenverhältnisse erklären könnte. Besonders Glutaminsäure (isotopisch schwerer) und Hydroxyprolin (isotopisch leichter) waren teilweise drastisch reduziert. Deutliche Kontaminationen mit organischer Fremdsubstanz, welche sich auf die Isotopenzusammensetzung des Gewebes auswirken könnten, waren nicht erkennbar. Jedoch kann auch hier ein Verlust von biogenen Aminosäuren mit gleichzeitiger Substitution von Molekülen aus Kontaminationsquellen wie organischer Materie des Bodenmilieus bzw. bakteriellen oder mykotischen Bestandteilen und Enzymen nicht näher charakterisiert werden, weshalb die Aminosäureanalyse alleine nicht als Indikator für Veränderungen des *in vivo* erworbenen Isotopensignals gelten kann (vgl. auch van Klinken 1999).

Die einzige archäologische Probe, welche einen im Vergleich zu den frischen Knochen erniedrigten C/N-Wert aufwies, MG 1340 (C/N = 2,98), zeigte keine offenkundigen Kontaminationen. Der prozentuale Kohlenstoff- und Stickstoffgehalt des Kollagens deutete hier vielmehr auf einen dia-

⁶⁰ Erhöht waren jedoch nur die Konzentrationen von Hydroxyprolin und Serin, während Prolin, Alanin, Tyrosin und Hydroxylysin reduziert waren. Eine unmittelbare Erklärung hierfür konnte weder auf Grundlage von mikrobiellen Stoffwechselreaktionen noch pathophysiologischen Überlegungen gefunden werden, jedoch ist ein diagenetischer Effekt anzunehmen.

genetischen Verlust beider Komponenten hin. Laut Jackes et al. (2001) zeigt ein Anstieg des Kohlenstoffgehalts in Relation zum Stickstoffgehalt die Degradation von Kollagen und die Entfernung von dessen Bestandteilen aus dem Knochen an.

Ein bedeutender Anteil der archäologischen Proben wies jedoch erhöhte C/N-Werte auf, welche den von den frischen Knochen vorgegebenen oberen Grenzwert überschritten. Dabei war eine deutliche Fundortspezifität festzustellen (Altdorf, Bruchsal, Manching). Ein erhöhtes molare C/N-Verhältnis deutet einen Verlust von Kohlenstoff bzw. einen Nettogewinn oder die Anreicherung von Stickstoff innerhalb der Organik des Gewebes an, beispielsweise durch den selektiven Verlust kleiner Aminosäuren wie Glycin (Harbeck und Grupe 2009), was durch die Aminosäureanalyse teilweise bestätigt werden konnte. Ein Zusammenhang mit der Einwanderung von Huminstoffen als potenzieller Stickstoffquelle wurde dagegen nicht erkannt.

Ambrose (1991) postulierte, dass sich das C/N-Verhältnis in archäologischem Knochenkollagen nicht grundlegend ändert, bis 97 % des Gesamtkollagens verloren gegangen sind. Dies wurde hier, wie bereits in anderen Studien (z.B. Harbeck und Grupe 2009), nicht bestätigt.

5.1.3.2 Auswirkungen der Kollagendegradation auf das Verhältnis der stabilen Isotope von C und N

Die isotopische Signatur des Kohlenstoffs und Stickstoffs aus dem Kollagen der drei humanen Spenderfemora war jeweils recht ähnlich und spiegelte eine hauptsächlich auf C3-Pflanzen basierte Ernährung sowie einen hohen Anteil tierischen Proteins an der Gesamternährung wider.

Die Ausgangswerte der frischen tierischen Vergleichsknochen dagegen zeigten eine für herbivore Organismen unerwartet hohe Streuung der Isotopenwerte, sowohl hinsichtlich der $\delta^{13}\text{C}$ als auch der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte (vgl. 1.4.1, für nähere Erläuterungen siehe Anhang Punkt g, Seiten 333 ff.).

Experimentelle hydrolytische Degradation

Die Isotopenverhältnisse von Kohlenstoff und Stickstoff im Verlauf der experimentellen hydrolytischen Degradation zeigten prinzipiell ein ähnliches Verhalten wie in der Studie von Harbeck und Grupe (2009). Das Verhältnis der stabilen Kohlenstoffisotope war in allen drei Proben bis zum 20. Inkubationstag extrem konserviert. Dies unterstreicht die Beobachtung von Bada et al. (1989), dass die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte auch gegen aggressive hydrolytische Bedingungen sehr robust sind und einen gewissen Verlust von Teilen des Polypeptids ohne Schwankungen abpuffern können, bevor der Verlust an Aminosäuren ein kritisches Maß überschreitet.

Ab dem 24. bis 28. Inkubationstag zeigten sich Unterschiede in den Proben. Während Femur 1 eine Abreicherung des schweren Kohlenstoffisotops aufwies, war bei Femur 2 eine leichte und bei Femur 3 eine starke Anreicherung zu beobachten. Die Peptidbindungen der hydrophoben Aminosäuren Valin, Leucin, Isoleucin, Methionin und Prolin, die alle im Vergleich zum Gesamtkollagen

eine Abreicherung des schweren Kohlenstoffisotops zeigen (Petzke et al. 2005), gelten generell als sehr hydrolyseresistent und hatten damit am längsten Bestand, was die Absenkung des $\delta^{13}\text{C}$ -Werts gegen Ende des Experiments erklären kann.

Die Anreicherung des schweren Kohlenstoffisotops in den Knochen des maturen und senilen Individuums dagegen könnte wiederum mit den altersbedingten Unterschieden in der Glykation des Kollagens in Zusammenhang stehen (vgl. 5.1.3.1, Seite 193). Es ist denkbar, dass im Zuge der fortgeschrittenen Hydrolyse auch die durch die Einlagerung von Zuckermolekülen stabilisierten Kollagenkomplexe schließlich gespalten wurden und zu einer Anreicherung des Extraktes mit dem schweren Kohlenstoffisotop führten, da die das leichte Isotop tragenden Komponenten im Zuge der Extraktion verloren gingen. Glycosyliertes Kollagen kann weiterhin verstärkt kovalente Bindungen mit Lipoproteinen niedriger Dichte (low-density lipoproteins, LDL) eingehen (Brownlee et al. 1985), deren Freisetzung eventuell ebenso zu den unterschiedlichen Trends zwischen den drei Spenderfemora beigetragen haben könnte.

Die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte zeigten sich insgesamt weniger stabil, wobei hier wieder deutliche Unterschiede zwischen den drei Spenderknochen deutlich wurden. Während auch das Verhältnis der stabilen Stickstoff-Isotope bei Femur 3 bis zum 20. Inkubationstag sehr konstant blieb und erst dann eine Abreicherung des schweren Isotops anzeigte, wiesen die beiden anderen Proben eine kurzzeitige, deutliche Abreicherung von ^{15}N unmittelbar nach Versuchsbeginn bzw. am 14. Inkubationstag auf. Die Aminosäureanalyse zeigte, dass dies vermutlich erneut mit einem Verlust von Teilen des Proteins im Zuge der Extraktionsmethodik in Zusammenhang steht (siehe 5.1.3.1).

Experimentelle bakterielle Degradation

Die Studie von Balzer et al. (1997) zeigte, dass bakterielle Abbaureaktionen des Knochenkollagens innerhalb kürzester Zeit die $\delta^{13}\text{C}$ - und $\delta^{15}\text{N}$ -Werte des Gewebes durch selektiven Abbau von Aminosäuren um bis zu -2,9 ‰ bzw. 5,8 ‰ verschieben können, was sich erheblich auf die Interpretation der Daten in Hinblick auf die Rekonstruktion von Ernährungsgewohnheiten auswirken würde.

In der vorliegenden Studie zeigte sich jedoch, dass die Isotopenverhältnisse von Kohlenstoff und Stickstoff trotz Schwankungen der prozentualen Anteile von C und N und des molaren C/N-Verhältnisses des Knochenkollagens sowie des nachgewiesenen Eintrags von Fremdstoffen insgesamt nur geringe Variationen aufwiesen. Diese machten für alle Proben sowohl hinsichtlich der $\delta^{13}\text{C}$ - als auch der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte unter 1 ‰ aus ($2\sigma = 0,18\text{--}0,30$ für $\delta^{13}\text{C}$ und $0,10\text{--}0,24$ für $\delta^{15}\text{N}$). Der Unterschied im Vergleich zu den frischen Referenzproben war dabei weder für $\delta^{13}\text{C}$ noch $\delta^{15}\text{N}$ statistisch signifikant.

Dies spricht primär für eine hohe Resistenz der Isotopenzusammensetzung des Kollagens bei biotischem Knochenabbau, zumindest in der initialen Phase.

Femur 3, der während der experimentellen hydrolytischen Degradation die stabilsten Werte aller Proben zeigte, wies im bakteriellen Degradationsexperiment dagegen die größte Varianz in den

$\delta^{13}\text{C}$ -Werten auf. Es wäre denkbar, dass die mit dem Kollagen vernetzten Zuckermoleküle eine attraktive Energiequelle für Mikroorganismen darstellen. Dies würde bedeuten, dass die Knochen älterer und diabetischer Individuen in der Gegenwart von Mikroorganismen potenziell eher von Alterationen des Verhältnisses der stabilen Kohlenstoffisotope betroffen sein könnten.

Der leichte Anstieg des prozentualen Kohlenstoff- und Abfall des Stickstoffgehalts im Vergleich zu den Werten der unveränderten Referenzprobe könnte eventuell auf ein verändertes Extraktionsverhalten der gespaltenen glycosylierten Kollagenkomplexe oder aber einen Verlust von Stickstoff im Zuge der bakteriellen Degradation hindeuten, was jedoch im Zuge der Aminosäureanalyse nicht unbedingt bestätigt werden konnte. Diese Zusammenhänge sollten in einem Nachfolgeprojekt systematisch überprüft werden (siehe 5.4).

Einfluss der Frühdiagenese bei Erdbestattung auf die Isotopie des Kollagens

Bei den *in situ* degradierten, bodengelagerten Proben wurde das Kernproblem der archäometrischen Forschung deutlich. Da hier keine Ausgangsisotopenwerte vorliegen, können potenzielle Abweichungen von der isotopischen *in vivo* Signatur nicht erkannt werden.

Zwar fielen einige Proben durch von der Mehrzahl des jeweiligen Kollektivs abweichende $\delta^{13}\text{C}$ - und $\delta^{15}\text{N}$ -Werte auf (vgl. 4.1.3.2, Seite 116), jedoch kann dies auch andere Gründe als diagenetische Veränderungen wie den Abbau von Kollagenbestandteilen oder den Eintrag von organischer Fremdschubstanz in den Knochen haben.

Bei den frühdiagenetisch beeinflussten Knochen hoben sich besonders viele Proben hinsichtlich ihres Kohlenstoff-Isotopenverhältnisses von der Mehrzahl der Proben ab, wobei besonders viele Individuen positivere Werte zeigten ($> -19,4\text{‰}$). Eine moderne, postindustrielle Gesellschaft ermöglicht den Zugang zu einer enorm hohen Vielfalt an Nahrungsmitteln, welche individuell zusammengestellt und genutzt werden können. Positivere $\delta^{13}\text{C}$ -Werte können eine Folge des erhöhten Konsums von C4-Pflanzenbestandteilen in der Nahrung sein (vgl. 1.4.1), für welche hauptsächlich Mais (*Zea mays*) in Frage kommt. Auf Deutschland bezogene Quellen berichten von $\delta^{13}\text{C}$ -Werten von $-20,4\text{‰}$ und $\delta^{15}\text{N}$ -Werten von $8,4 - 10,1\text{‰}$ aus dem Keratin von Haaren zeitgenössischer Individuen (Bol und Pflieger 2002, Nakamura et al. 1982), und auch die Werte der frischen Spondefemora aus der vorliegenden Studie zeigten mit einem durchschnittlichen $\delta^{13}\text{C}$ -Wert von $-20,2\text{‰}$ einen insgesamt geringeren Einfluss von C4-Pflanzen an der durchschnittlichen omnivoren Ernährung.

Alle Knochen mit „auffälligen“ $\delta^{13}\text{C}$ -Werten stammten von senilen Individuen, wobei dies auch die häufigste Altersgruppe darstellte. Es ist nicht bekannt, inwieweit sich der in den Degradationsexperimenten abzeichnende Einfluss des Individualalters bzw. einer perimortal bestehenden Diabetes-Erkrankung und die damit einhergehende Glykation des Kollagens auf eine eventuelle Verschiebung der Isotopenwerte auswirkte, wie sie im Zuge mikrobieller Aktivität vermutet wird (siehe weiter oben, Seite 208).

Eine geringere Anzahl an Proben zeigte Auffälligkeiten hinsichtlich der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte. Ein höherer Anteil des schweren Stickstoffisotops kann neben degradativen Effekten auch auf eine Ernährung

hinweisen, welche auf große Mengen tierischen Proteins basierte (Fleisch, Milchprodukte, Eier) oder aber die Auswirkungen eines katabolen Stoffwechsels widerspiegeln (1.4.1). Malnutrition, Sarkopenie⁶¹ und Kachexie treten bei älteren Menschen häufig auf und sind unter anderem eine Folge von Herz- oder Niereninsuffizienz (Bauer et al. 2008, Kunter 2014). Dies führt dazu, dass sich im Zuge der Verwertung des körpereigenen Proteins aufgrund der bevorzugten Ausscheidung des leichten Stickstoffisotops das schwere Isotop mehr und mehr in den Geweben anreichert (Hobson et al. 1993, Steele und Daniel 1978) und so zu einem höheren $\delta^{15}\text{N}$ -Wert führt. Die im Vergleich zu den restlichen Proben des Kollektivs als auffällig eingestuften Isotopenwerte zeigten jedoch keinen Zusammenhang mit histopathologischen Befunden (vgl. Katzenberg und Lovell 1999).

Degradative Effekte konnten damit nicht endgültig mit Veränderungen der Isotopie des Kollagens in Verbindung gebracht werden.

Vergleichsstudie Frühdiagenese ohne Bestattung: Isotopische Veränderungen des Kollagens

Auch in den Knochen der unbestatteten Rehkadaver konnten teilweise bereits nach dem ersten Beprobungsintervall Änderungen der Isotopenwerte von Kohlenstoff und Stickstoff im Vergleich zu den Werten der frischen, unveränderten Ausgangsprobe festgestellt werden. Während sich die $\delta^{13}\text{C}$ - und $\delta^{15}\text{N}$ -Werte in den Knochen der Individuen 1 und 5 sehr konserviert zeigten, waren besonders die Veränderungen des $\delta^{13}\text{C}$ -Werts in den Proben anderer Tiere teilweise erheblich, insbesondere in den Individuen 3 und 9.

Bei Reh 9 konnte eine kontinuierliche Anreicherung der schweren Kohlenstoff- und Stickstoffisotope über den Versuchszeitraum beobachtet werden, bei Reh 3 war auffällig, dass der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert in der Probe nach 3 Monaten Liegezeit deutlich angereichert und der $\delta^{15}\text{N}$ -Wert dagegen abgereichert war. Den Proben beider Individuen war gemeinsam, dass insbesondere der prozentuale Kohlenstoffanteil des Kollagens nach dem ersten Beprobungsintervall abnahm, aber in den Knochen nach 6 Monaten Liegezeit extrem erhöht war, ebenso wie der Stickstoffanteil. Diese drastische Erhöhung kann nur auf eine Kontamination mit exogener organischer Substanz erklärt werden, welche sich ebenso auf das Verhältnis der stabilen Isotope von Kohlenstoff und Stickstoff ausgewirkt haben muss. Jedoch konnte eine deutliche Veralgung des Knochens lediglich bei der nach 6 Monaten akquirierten Probe von Reh 9 erkannt werden, und diese zeigte auch im Aminosäureprofil aufgrund des Anstiegs bestimmter Aminosäuren eine potenzielle Kontamination des Extrakts mit Zellwandbestandteilen von Algen (siehe 5.1.3.1, Seite 200).

Im Fall von Reh 3 jedoch ließ die Aminosäureanalyse nicht unmittelbar auf eine Kontamination mit Algen schließen, sondern legte durch die Konzentrationsreduktion zahlreicher Aminosäuren eher einen bakteriellen Abbau nahe. Sowohl Reh 9 als auch Reh 3 zeigten im histologischen Bild Anzeichen bakteriellen Befalls in den Knochen beider Beprobungszeiträume.

⁶¹ griech. *sarx* = Fleisch, *penia* = Mangel, altersbedingter Muskelschwund

Ein massiver Abbau von Aminosäuren aus dem Kollagen würde jedoch nicht den stark erhöhten prozentualen Kohlenstoff- und Stickstoffanteil des Extrakts erklären. Die einzigen deutlich erhöhten Aminosäurekonzentrationen in der zuletzt akquirierten Probe von Reh 3, Asparaginsäure und Hydroxyprolin, könnten dennoch auf Algen hinweisen, da die Zellwände bestimmter Arten reich an Prolin oder Hydroxyprolin sind (Punnett und Derrenbacker 1966, Seite 200).

Viele Algen, Cyanobakterien und Flechten sind als Adaption an extreme Standorte in der Lage, über den Kohlendioxid-Konzentrationsmechanismus (CCM) anorganische Kohlenstoffquellen aufzukonzentrieren und als CO_2 in die Photosynthese einzuschleusen (Smith und Griffiths 1996). Es ist denkbar, dass die Algen eventuell das Mineral des Knochens anlösen und den freigesetzten Kohlenstoff für die eigene Photosynthese nutzen könnten. Eventuell führte dies bei der Mitextraktion und Analyse des im Vergleich mit schwerem Kohlenstoffisotop leicht angereicherten pflanzlichen Materials schließlich zu einer Verschiebung des $\delta^{13}\text{C}$ -Werts aus dem organischen Extrakt in den positiveren Bereich. Zwar konnte in den betroffenen Proben histologisch keine Anlösung bzw. Rekristallisation des Knochenminerals nachgewiesen werden, jedoch wurde dies in einer anderen Probe, welche leider nicht massenspektrometrisch analysiert wurde, im Bereich von Bohrkanälen beobachtet (siehe Abb. 5.5). Eventuell kam hier ein ähnlicher Mechanismus zum Tragen.

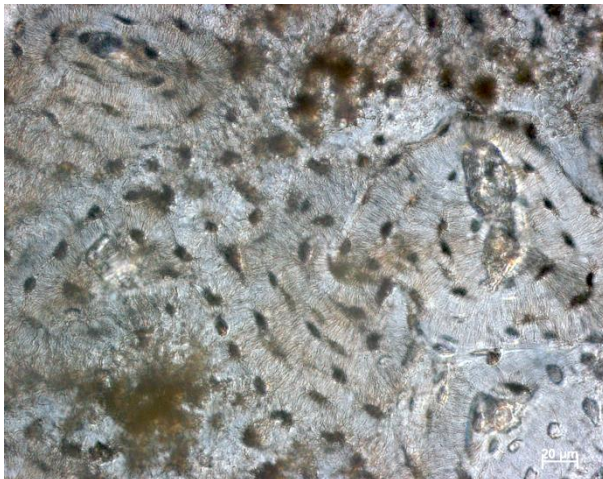


Abb. 5.5 Lokale, um Bohrkanäle konzentrierte Auflösung und Rekristallisation des Minerals im Knochen von Reh 4 nach sechsmonatiger Liegezeit (Hellfeld, 400 x).

Es ist nicht auszuschließen, dass das Individualalter der Tiere ebenso einen Einfluss auf die Angreifbarkeit des Kollagens hatte. Während die eindeutig juvenilen bzw. jungen Tiere Reh 1 und Reh 5 ein sehr konserviertes Isotopensignal von Kohlenstoff über die gesamte Inkubationszeit aufwiesen, wurde eine Veränderung der Werte lediglich bei älteren bzw. alten Individuen beobachtet. Eventuell könnte hier erneut der Glykationsgrad des Kollagens eine Rolle spielen, welcher das Molekül attraktiver für mikrobiellen Abbau machen könnte.

Isotopische Veränderungen des Kollagens bei längeren Liegezeiten

Im Fall der archäologischen Proben wurde eine wesentlich breitere Streuung der $\delta^{13}\text{C}$ - und $\delta^{15}\text{N}$ -Werte deutlich als bei den frühdiagenetisch beeinflussten Knochen. Dabei fiel auf, dass sich die fundortspezifischen Isotopensignaturen meist stark ähnelten, was prinzipiell auf den Zugang zu denselben Nahrungsquellen und somit ein ähnliches Ernährungsverhalten schließen lässt. Zwei Proben (Alt 220, MWL 137) hoben sich hinsichtlich ihrer auffällig positiveren $\delta^{13}\text{C}$ -Werte deutlich von den übrigen Proben ab. Es ist eher unwahrscheinlich, dass dies auf eine stark C4-Pflanzen-

dominierte Ernährung zurückzuführen ist. Neben Mais, welcher seit der frühen Neuzeit in Europa angebaut wird (Rebourg et al. 2003) und zumindest für das Individuum aus Altdorf in Betracht zu ziehen wäre, käme auch Hirse als potenzieller Nahrungsbestandteil in Frage. Jedoch ist es wenig plausibel, dass nur einzelne Individuen aus einer Population eine derart auf andere Grundnahrungsmittel basierte Diät verfolgten. Ebenso unwahrscheinlich erscheint die Zuwanderung von Individuen aus Regionen, in welchen eine auf Mais oder Hirse basierte Grundernährung vorherrschte, da die Sauerstoff-Isotopendaten dies nicht unterstützen (vgl. Seite 131 f.). Daher könnte hier eher eine diagenetisch bedingte Veränderung der Werte naheliegen.

Es fanden sich jedoch auch vom Durchschnitt abweichende, niedrigere $\delta^{13}\text{C}$ -Werte ($< -20,5\text{‰}$). Dies betraf alle Individuen des Fundorts Bruchsal-Aue, die beiden Individuen aus Maisach-Gernlinden sowie eines der beiden Individuen aus Freiham. Im Fall der Proben aus Bruchsal könnte die gelegentliche Nutzung von Süßwasserfisch als Nahrungsbestandteil für die leicht negativeren $\delta^{13}\text{C}$ -Werte verantwortlich sein, was durch die geographische Nähe zum Rhein eine naheliegende Erklärung sein kann (vgl. Keller et al. 2015), da Süßwasserfische allgemein erniedrigte $\delta^{13}\text{C}$ -Werte aufweisen (Bösl et al. 2006, Grupe et al. 2015). Jedoch ist diese Erklärung für die Proben aus Maisach und Freiham eher unwahrscheinlich, da sich die Siedlungen nicht in unmittelbarer Nähe zu einem größeren Gewässer befanden.

Das Verhältnis der stabilen Stickstoffisotope im Kollagen der archäologischen Proben war durchschnittlich niedriger als bei den Proben des Westfriedhofs, was prinzipiell auf einen geringeren bzw. weniger regelmäßigen Anteil fleischlicher Kost und anderer tierischer Produkte an der Gesamternährung suggeriert. Jedoch zeigten auch hier einige Proben deutliche Abweichungen vom allgemeinen Durchschnitt. Den höchsten Wert wies die Probe Alt 93 mit $\delta^{15}\text{N} = 13,2\text{‰}$ auf. Auch SB 626 und FH 3520 zeigten auffällig hohe Stickstoff-Isotopenwerte, wobei die Probe aus Freiham in der grafischen Auswertung in beiden Isotopensystemen auffällig war. Die erniedrigten $\delta^{13}\text{C}$ - und erhöhten $\delta^{15}\text{N}$ -Werte können den Konsum von Süßwasserfisch vorspiegeln, jedoch wurde diese Probe als hinsichtlich des *in vivo*-Isotopensignals wahrscheinlich verändert eingestuft (vgl. 5.3.2).

Für das Individuum aus Sulzbach dagegen konnte keine Veränderung der Isotopenverhältnisse des Kollagens bestätigt werden. Jedoch ergab der morphologische Befund dieser Frau eine ausgeprägte geriatrische Multimorbidität (siehe 2.2.7). Somit wird ein kataboler Stoffwechsel, welcher zu einer Anreicherung des schweren Stickstoffisotops in den Körpergeweben führte, in den letzten Lebensjahren des Individuums als wahrscheinlich angenommen und erklärt damit die auffällig hohen $\delta^{15}\text{N}$ -Werte ohne den Einfluss postmortalen, degradativer Faktoren.

5.1.4 Beurteilung des Erhalts der mineralischen Matrix

5.1.4.1 Schwankungen des prozentualen Gewichtsanteils der anorganischen Knochenfraktion

Die prozentuale Gewichtsausbeute der anorganischen Knochenfraktion nach erfolgter Deproteinierung zeigte erwartungsgemäß eine hoch signifikante Korrelation mit dem Gewicht der organischen Komponente, da der prozentuale Verlust der einen Komponente den gleichzeitigen relativen Anstieg der anderen bedingt.

Besonders deutlich wurde dies im Zuge der experimentellen hydrolytischen Degradation, bei welcher kein Eintrag von organischer oder anorganischer Fremdsubstanz zu erwarten war, was die Korrelation der beiden Merkmale hätte beeinflussen können. Der Verlauf der Gewichtsausbeute der mineralischen Fraktion folgte dabei exakt invers der prozentualen Zu- oder Abnahme des Organik-Gehalts.

Experimentelle bakterielle Degradation

In den intentionell mit Bakterien angeimpften Knochen wurden zum Teil deutliche Veränderungen des prozentualen mineralischen Anteils im Vergleich zu den frischen, diagenetisch unveränderten Referenzproben beobachtet. Dabei waren die beiden Parameter jedoch in ihrem Verlauf nicht immer aneinander gekoppelt.

Bei der sehr stark von Schimmelbildung betroffenen, ursprünglich mit *Pseudomonas fluorescens* beimpften Probe von Femur 3 wurde trotz der deutlichen Abnahme des Organik-Anteils auch ein leichter Rückgang des Anorganik-Gewichts festgestellt.

Es ist bekannt, dass Vertreter der Gattung *Aspergillus* neben der Produktion effektiver Proteasen auch gezielt anorganische Phosphorverbindungen zersetzen und als Nährstoffquelle nutzen können (siehe 1.3.2.1, Higgins und Burns 1975). Hierfür würden auch die Erniedrigung des mittels FTIR-Spektroskopie bestimmten C/P-Verhältnisses sowie die erhöhte Kristallinität sprechen (siehe 4.1.4.3, Seite 138, Tabelle 4.11 und 5.1.4.3). Im Zuge der Demineralisation und Behandlung mit Ca-Acetat-Essigsäurepuffer konnten vermutlich durch den Schimmelpilz angelöste mineralische Bestandteile aufgelöst und so Carbonationen in größeren Mengen entfernt werden, während das zurückbleibende Substrat lokal durch Rekristallisation hypermineralisiert war, was die erhöhte Kristallinität erklären würde (vgl. Bell 1990, Hackett 1981). Dies führte ebenso zu einer Anreicherung des $\delta^{13}\text{C}$ -Werts (siehe 4.1.4.2 und 5.1.4.2). Bei der unter anaeroben Bedingungen inkubierten Kontrolle von Femur 3 sowie dem mit *Clostridium histolyticum* beimpften Knochenstück von Femur 1 konnte sowohl eine prozentuale Zunahme der organischen als auch der anorganischen Fraktion beobachtet werden. Da Kontaminationen mit Fremdmineralphasen im großen Stil in diesem Zusammenhang als eher unwahrscheinlich erscheinen, kommt eine Kontamination mit organischer Fremdsubstanz mit gleichzeitigem Verlust knocheneigenen Kollagens in Frage. An-

hand der Aminosäureanalyse konnten hierfür jedoch keine Anhaltspunkte gefunden werden. Jedoch ließen sich Hinweise darauf finden, dass das Knochenmineral eine gewisse Modifikation erfahren haben muss. Die Kontrolle von Femur 3 (anaerob) wies eine deutliche Abreicherung des $\delta^{18}\text{O}$ -Werts auf, Femur 1, *C. histolyticum* zeigte einen Anstieg des C/P-Verhältnisses, was den Verlust von Phosphat bedeuten könnte.

Bodengelagerte Proben

Bei den *in situ* degradierten Proben ließ sich eine hoch signifikante Korrelation zwischen dem prozentualen Gewicht der anorganischen Knochenfraktion und der Liegezeit herstellen. Jedoch galt dies nur in Hinblick auf das Gesamtprobenkollektiv, innerhalb der einzelnen Stichproben konnte die Beobachtung nicht bestätigt werden. Die archäologischen Proben zeigten zum Teil deutlich höhere mineralische Gewichtsanteile als die frühdiagenetisch beeinflussten Knochen, was sich mit dem Verlust von großen Teilen der organischen Matrix und auch mit dem Auftreten authigener Kristalle innerhalb des Knochenquerschnitts in Einklang bringen ließ. Der hoch signifikante Zusammenhang zwischen dem anteiligen Gewicht der mineralischen Matrix und der Altersklasse der Individuen ist kritisch zu bewerten. Die durchschnittlich höchsten anorganischen Gewichtsanteile traten in der Altersklasse *Adultas* auf, die niedrigsten in der Klasse *Senilis*. Da hier kein entsprechender Zusammenhang mit dem Anteil der organischen Matrix festgestellt werden konnte, dürfte die Beobachtung auf die ungleiche Verteilung der Altersklassen in den Probenkollektiven zurückzuführen sein. So war der Anteil seniler Individuen im Kollektiv Westfriedhof überdurchschnittlich hoch, während bei den archäologischen Proben zahlreiche als adult eingestufte Individuen vertreten waren. Der Höhe des prozentualen Anorganik-Anteils dürfte somit auf andere Ursachen zurückzuführen sein, das Alter spiegelt lediglich eine Pseudokorrelation wider.⁶²

⁶² Lediglich eine Probe des Kollektivs Westfriedhof wies einen Anorganik-Anteil von über 60 % auf. Dabei handelte es sich um die Probe mit der kürzesten Liegezeit (WF 22, PMI = 8 Jahre), welche ebenso einen niedrigen Kollagengehalt zeigte. Dies würde die Theorie stützen, dass die Dekomposition des Weichgewebes durch die starke lokale Ansäuerung einen entscheidenden Einfluss auf die Integrität der Knochenbestandteile ausübt. Andere Proben mit ähnlich kurzer Liegezeit wiesen jedoch niedrigere prozentuale Anorganik-Gewichtsanteile auf. Es ist nicht klar, ob und warum WF 22 eventuell eine Hypermineralisierung des Gewebes gezeigt haben könnte. Weder die Kristallinität noch das C/P-Verhältnis zeigten irgendwelche Auffälligkeiten (siehe Anhang, Tabelle 8.12), und auch histologisch konnten keine Besonderheiten festgestellt werden. Edwards et al. (2000) beschreiben eine Zunahme der Knochendichte in postmenopausalen Frauen durch die Therapie mit Statinen zur Senkung des Cholesterinspiegels (CSE-Hemmer, Cholesterin-Synthese-Enzym-Hemmer). Da es sich bei WF 22 um ein weibliches, seniles Individuum handelte, könnte dies eine mögliche Erklärung für den erhöhten Mineralgehalt des Knochens sein.

Eine weitere Probe (WF 29b) zeigte einen mit 46 % recht niedrigen Anorganik-Gehalt des Knochens. Der relative Organik-Gehalt war im Vergleich zu den restlichen Proben des Kollektivs nicht auffällig hoch. Zwar konnte histologisch eine deutliche pathologische Knochenresorption nachgewiesen werden, jedoch waren andere Proben teilweise deutlich stärker hiervon betroffen, zeigten aber unauffällige Anorganik-Anteile. Eventuell könnte dies auch auf die Gabe bestimmter, den Knochenstoffwechsel beeinflussenden Medikamente wie beispielsweise Parathormon zurückgeführt werden (Neer et al. 2001).

Im Fall der archäologischen Knochen wiesen lediglich drei Proben prozentuale Anorganik-Gewichtsanteile von unter 60 % auf, alle übrigen zeigten erhöhte Werte. Jene Proben mit einem mineralischen Gewichtsanteil über 70 % konnten mehrheitlich mit der Bildung authigener Kristalle in Verbindung gebracht werden. Weshalb jedoch so gut wie alle anderen Proben einen höheren Anteil anorganischer Substanz zeigten als die frühdiagenetisch beeinflussten Knochen, auch wenn der Anteil der organischen Komponente vergleichbar war, ist nicht geklärt.

5.1.4.2 Diageneseverhalten der isotopischen Zusammensetzung des strukturellen Carbonats

Experimentelle hydrolytische Degradation

Bei den experimentell hydrolytisch degradierten Proben zeigte sich der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des strukturellen Carbonats trotz der aggressiven Hydrolysebedingungen über den Versuchszeitraum sehr konstant und wies auch am Ende des Experiments keine nennenswerten Veränderungen auf. Dies deckt sich mit den Ergebnissen des untersuchten nicht bestatteten tierischen Vergleichskollektivs⁶³ sowie den Beobachtungen von Harbeck (2007), wobei dort eine Auflösung und anschließende Rekristallisation des Minerals aufgrund der steigenden Gewichtsanteile der anorganischen Fraktion ausgeschlossen wurde. Jedoch spiegelt die kontinuierliche Abreicherung des $\delta^{18}\text{O}$ -Werts, welche insgesamt etwa 4 ‰ ausmachte, die erhöhte Reaktivität des Knochenminerals mit Beeinflussung der Isotopenwerte bei steigenden Temperaturen wider. Der Verlauf des $\delta^{18}\text{O}$ -Werts ließ sich mit den anhand der FTIR-Spektroskopie bestimmten Parametern C/P-Verhältnis und Kristallinität in einen sinnvollen Zusammenhang setzen.

So nahmen die Kristallinität und damit auch die Kristallgröße der Knochenkristallite von Versuchsbeginn an bis zum 6. Kochtag ab, während das C/P-Verhältnis anstieg. Dies könnte durchaus ein Hinweis auf die Anlagerung bzw. auch Inkorporierung von Carbonat aus dem umgebenden (Leitungs-) Wasser in die Knochenkristallite sein, da ein steigender Carbonatanteil in den Kristallgittern zu einer Verkleinerung der Kristallite und zu einem geringeren Ordnungsgrad (Kristallinität) führt (vgl. auch 5.1.4.3). Die Analyse der isotopischen Zusammensetzung des Carbonatan-teils des verwendeten Leitungswassers zu Beginn des Experiments ergab einen $\delta^{13}\text{C}$ -Wert von -0,22 ‰ und einen $\delta^{18}\text{O}$ -Wert von -7,09 ‰. Eine Inkorporierung von Fremddcarbonat hätte somit kaum Einfluss auf das Verhältnis der stabilen Kohlenstoffisotope des Knochens, jedoch könnte das Absinken des $\delta^{18}\text{O}$ -Werts zumindest teilweise durch den Einbau isotopisch leichteren Sauerstoffs

⁶³ Die einzige Ausnahme bildeten jedoch die Knochen von Reh 3, bei welchen das Verhältnis der stabilen Kohlenstoffisotope im Verlauf des Versuchszeitraums insgesamt eine Anreicherung des schweren Isotops um etwa 2 ‰ erfuhr. Auch der $\delta^{18}\text{O}$ -Wert der Proben zeigte deutliche Modifikationen, wobei hier der Anteil des schweren Sauerstoffisotops bis zum Ende des Versuchs um fast 3 ‰ abnahm. Ähnliche Ergebnisse wurden im Rahmen des bakteriellen Degradationsexperiments erzielt (siehe weiter unten).

aus dem Umgebungswasser erklärt werden. Der plötzliche erneute Anstieg des $\delta^{18}\text{O}$ -Werts zwischen dem 6. und 12. Inkubationstag ging mit einer Erhöhung der Kristallinität und einem Absinken des C/P-Verhältnisses einher, was vermutlich auf den erneuten Verlust des neu eingelagerten, isotopisch leichteren Carbonats hindeutet. Dies ließ den Ordnungsgrad der Kristalle erneut ansteigen, jedoch nicht bis auf das Ausgangsniveau. Die nachfolgenden Schwankungen hinsichtlich des Verhältnisses der stabilen Sauerstoffisotope, der Kristallinität sowie dem C/P-Verhältnis könnten als Anzeichen für die zunehmende Instabilität der Knochenkristallite gewertet werden. Ab dem 16. Inkubationstag nahm der $\delta^{18}\text{O}$ -Wert schließlich kontinuierlich ab, ebenso wie das C/P-Verhältnis, während Kristallinität und Kristallgröße anstiegen. Dies suggeriert den massiven Verlust von Carbonationen aus dem Mineral, wobei sich die Kristalle vermutlich umlagern und in einer thermodynamisch stabileren Form rekristallisieren. Dies geschieht zeitgleich mit der Denaturierung der organischen Matrix, bei welcher ebenso ab diesem Zeitpunkt des Experiments ein rapider Abbau nachgewiesen wurde. Die starke Abreicherung des Sauerstoff-Isotopenverhältnisses legt nahe, dass bevorzugt jene Moleküle verlorengehen, welche das schwere Sauerstoffisotop tragen.

Dies überrascht insofern, da chemische Bindungen mit schweren Isotopen stabiler sind als mit leichten Isotopen, schwere Isotope bevorzugt in den dichter gepackten Bereichen des Kristalls sitzen sowie der kinetische Isotopeneffekt eine Anreicherung des Knochens mit schwerem Isotop voraussagen würde (Hoefs 2009). Koch et al. (1997) diskutieren die Möglichkeit, dass im Zuge der Deproteinierung des Knochens durch die Behandlung mit Essigsäure das eventuell bereits durch Anlösung angegriffene Mineral durch die Umlagerung in Brushit (siehe 1.3.2.1) teilweise verlorengeht bzw. durch die Einlagerungen von Ionen aus dem Umgebungsmilieu isotopische Veränderungen erfährt.

Die Kinetik bzw. Fraktionierung von Isotopen ist in wässrigen Lösung bei Auflösung, Repräzipitation und Diffusion so gut wie nicht nachvollziehbar (Hoefs 2009), weshalb die absolute Ursache für die Abreicherung des schweren Sauerstoffisotops im Mineral des Knochens nicht endgültig bestimmt werden kann.

In einer Vorstudie des Projekts mit anderen Knochen, ebenfalls frischen menschlichen Spenderfemora, welche unter vergleichbaren Bedingungen inkubiert wurden (Daten unveröffentlicht), wurde zudem deutlich, dass die aus dem Phosphat des Knochens gewonnenen Sauerstoff-Isotopendaten wesentlich stabiler waren als die des Carbonats (siehe Abb. 5.6).

Ein signifikanter Negativtrend wurde hier nicht erkannt. Dies bestätigt eindeutig die höhere Resistenz der Phosphatbindungen innerhalb des Bioapatits unter hydrolytischen Bedingungen und bestätigt die Ergebnisse von Munro et al. (2007), wo eine Stabilität des Sauerstoffs aus dem Phosphat von Knochen bis 300 °C festgestellt wurde.

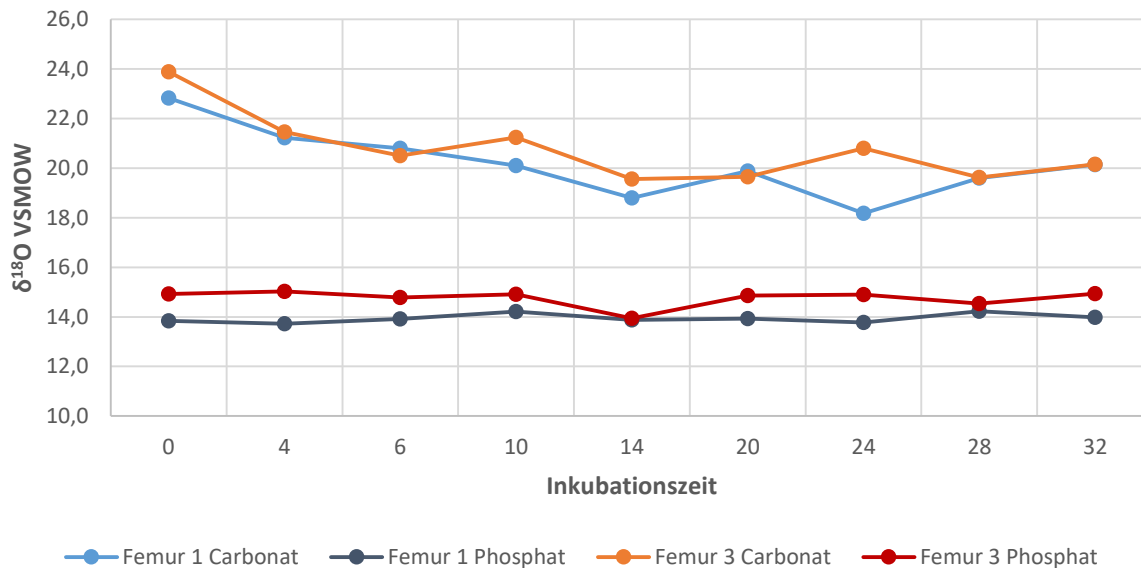


Abb. 5.6 Verlauf der $\delta^{18}\text{O}$ -Werte aus dem strukturellen Carbonat und Phosphat über den Verlauf der experimentellen hydrolytischen Degradation frischer humaner Spenderknochen aus einer Vorstudie zu der vorliegenden Arbeit (Daten unveröffentlicht). Während auch hier bei den $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ -Werten eine Abreicherung beobachtet wurde, blieben die $\delta^{18}\text{O}_{\text{phos}}$ -Werte wesentlich konstanter.

Experimentelle bakterielle Degradation

Doch nicht nur die intentionelle hydrolytische Degradation der Knochenproben führte zu starken Modifikationen der Isotopensignatur der mineralischen Matrix des Knochens. Auch die experimentelle bakterielle Degradation verdeutlichte, dass sich mikrobielle Aktivität teils erheblich auf die stabilen Isotope von Kohlenstoff, besonders aber auf das Verhältnis der Sauerstoffisotope in den Knochen auswirkte. So wurde in fast allen Fällen eine Abreicherung des schweren Sauerstoffisotops beobachtet. Die Tatsache, dass von der Veränderung der Isotopenwerte besonders viele bakteriell unbeimpfte Kontrollen betroffen waren, macht deutlich, dass auch hier die sekundär aufgewachsenen Schimmelpilze ursächlich für die Verschiebung der Isotopenverhältnisse gewesen sein müssen. In den Kontrollen konnten sich die Pilze ohne Bakterienkonkurrenz ungehindert ausbreiten und auf das Knochengewebe einwirken. Da es sich bei der mykotischen Kontamination der Proben jedoch augenscheinlich nicht um ein und dieselbe Art handelte, war es schwer, verallgemeinernde Aussagen zu treffen. So schien der potenzielle Penicillinproduzent auf der Probe „Femur 3, Kontrolle (aerob)“, der für Veränderungen des Aminosäureprofils verantwortlich gemacht werden konnte (siehe 5.1.3.1, Seite 199), keinen Einfluss auf das Mineral des Knochens ausgeübt zu haben, während es bei anderen Schimmeltypen umgekehrt zu sein schien. Die Abnahme des $\delta^{18}\text{O}$ -Wertes (Abreicherung des schweren Isotops) aus dem strukturellen Carbonat des Knochens durch bakterielle bzw. mykotische Aktivität wurde bereits in der Studie von Fernández-Jalvo et al. (2010) beschrieben, jedoch wurde dort keine Erklärung des Phänomens

diskutiert. Kolo et al. (2007) erzielten in ihrer Studie über die Auswirkungen mykotischer Aktivität auf carbonathaltige Gesteine interessanterweise ähnliche Ergebnisse.⁶⁴ Die Autoren vermuten, dass im Zuge der biochemischen Diagenese des Substrats durch von den Pilzen produzierte organische Säuren wie Oxalat, Citrat oder Malat das Mineral aufgelöst wird sowie in Form von Metallchelaten rekristallisiert. Die so entstehenden authigenen Mineralphasen sind hauptsächlich Calcium- oder Magnesiumoxalate (Weddellit, Whewellit und Glushinskit) und verantwortlich für die Verschiebung in den Isotopenwerten. Der Ursprung des Kohlenstoffs und Sauerstoffs in den Rekristallisationsprodukten ist ungeklärt, jedoch vermuten die Autoren Anteile aus gelöstem Carbonat des Substrats, Luft-CO₂ sowie dem Umgebungswasser (Kolo et al. 2007). Die neugebildeten Mineralphasen wiesen in der Studie eine Abreicherung von ¹³C und eine Anreicherung von ¹⁸O auf, während das angegriffene Substrat hinsichtlich des schweren Kohlenstoffisotops angereichert bzw. in Bezug auf das schwere Sauerstoffisotop abgereichert war. Es ist vorstellbar, dass die Rekristallisationsprodukte im Zuge der Probenaufbereitung mit Ca-Acetat-Essigsäurepuffer zumindest teilweise entfernt wurden, womit sie nicht mehr wesentlich zum Isotopenpool des Knochens beitragen konnten. Die Auswertung der entsprechenden FTIR- und Raman-Spektren ergab jedoch keine eindeutigen Peaks für Whewellit (Calciumoxalat-Monohydrat, Ca(C₂O₄)·H₂O) und Weddellit (Calciumoxalat-Dihydrat, Ca(C₂O₄)·2H₂O) während das Auftreten von Glushinskit (Magnesiumoxalat-Dihydrat, Mg(C₂O₄)·2H₂O) ohnehin unwahrscheinlich ist, da keine Magnesiumquelle zur Verfügung stand. Eventuelle Gründe für den fehlenden Nachweis von Whewellit bzw. Weddellit werden unter Punkt 5.1.4.3 diskutiert.

Eventuelle Veränderungen der Werte der stabilen Sauerstoffisotope aus dem Phosphat des Knochens konnten an den bakteriell degradierten Knochen nicht untersucht werden. Jedoch scheinen die Phosphatgruppen bei biotischem Knochenabbau besonders angreifbar zu sein (z.B. Zazzo et al. 2004a, 1.3.2.4), was durch die Untersuchung der nicht bestatteten tierischen Vergleichsknochen bestätigt werden konnte

Nicht nur das strukturelle Carbonat des Knochenminerals war von diesen Modifikationen betroffen, auch die aus dem Phosphat gewonnenen $\delta^{18}\text{O}$ -Werte zeigten eine kontinuierliche Abreicherung über den Versuchszeitraum. Dies ist ein Beleg dafür, dass auch die aufgrund ihrer stabilen Bindungen generell als degradationsresistent geltenden Phosphatgruppen innerhalb kürzester Zeit aufgebrochen und abgebaut werden können, was zu einer Veränderung der *in vivo* erworbenen Isotopensignatur des Sauerstoffs führen kann (vgl. auch Anhang Punkt d, Seite 329).

⁶⁴ Und auch die Ergebnisse der Untersuchung des unbestatteten tierischen Vergleichskollektivs deuteten in diese Richtung. Da die Tatsache, dass das Aminosäureprofil der Proben von Reh 3 Auffälligkeiten zeigte, was ebenfalls auf eine organische Kontamination hindeutete, ist es wahrscheinlich, dass die betreffenden Knochen zu einem Zeitpunkt des Degradationsverlaufs von Schimmelpilzen befallen gewesen sein mussten. Diese waren jedoch zum Zeitpunkt der Probenbearbeitung makroskopisch nicht auffällig. Im Zeitraum der frühen Dekompositionsphasen an der Erdoberfläche können sich die taphonomischen Rahmenbedingungen wie das lokale Feuchtigkeitsregime, der jeweilige Beschattungsgrad etc. jedoch recht schnell verändern, weshalb eine Änderung in für mykotisches Wachstum ungünstige Verhältnisse möglich erscheint.

Beurteilung der Sauerstoffisotopie der frühdiagenetisch beeinflussten Proben bei Erdbestattung

Die Ergebnisse der experimentellen Degradation zeigten, dass die Isotopenwerte von Kohlenstoff und Sauerstoff aus dem strukturellen Carbonat sowohl durch hydrolytische als auch biogene Faktoren innerhalb kürzester Zeit zum Teil erheblich beeinflusst werden können. Es ist daher zu vermuten, dass auch die *in situ* degradierten Proben diverse Modifikationen der Werte aufwiesen. Im Fall der Proben des Westfriedhofs zeigten sich anhand der grafischen Auswertung einige Werte, welche vom Gros des Probenkollektivs abwichen. Dabei waren die Variationen in den $\delta^{13}\text{C}$ -Werten am größten. Jedoch kann dies durchaus auf Unterschiede in der Ernährung zurückzuführen sein, da der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert aus dem strukturellen Carbonat das gesamte Nahrungsspektrum inklusive der konsumierten Fette, Kohlenhydrate und Proteine abbildet, deren Aufnahme insbesondere in einer modernen Gesellschaft, in welcher Nahrungsüberfluss herrscht, individuell sehr verschieden sein kann. Tatsächlich wiesen die Proben, welche durch ihre negativen $\delta^{13}\text{C}$ -Werte auffielen (vgl. 4.1.4.2, Seite 132, Tabelle 4.8), auch ein sehr niedriges Kollagen-Carbonat-Spacing auf ($< 3,7$), was auf eine sehr fettreiche Ernährung hindeuten könnte, da Fette isotopisch leichter sind als andere Gewebe (vgl. 1.4.2).⁶⁵

Hinweise auf diagenetisch bedingte Veränderungen ließen sich dagegen in den hinsichtlich der Kohlenstoffisotopie des Knochencarbonats auffälligen Proben nicht nachweisen.⁶⁶

Problematisch für die Interpretation der Daten ist, dass die Fraktionierung von Sauerstoff im Körperwasser von den physiologischen Eigenheiten einer Art sowie der Körpergröße abhängig ist (Bryant und Froehlich 1995) und damit speziesspezifisch variiert (Martin et al. 2008). Dies verkompliziert die Vergleichbarkeit der einzelnen Studien, welche sich nicht mit derselben Tierart befassen. Carbonat und Phosphat werden zudem nicht gleichförmig in das Kristallgitter des Knochenminerals eingebaut und unterliegen eventuell auch anderen Fraktionierungswegen, weshalb es zu einer relativ großen physiologisch bedingten Variabilität des Isotopenverhältnisses der beiden Komponenten kommen kann (Pellegrini et al. 2011, Webb et al. 2014). Diese Faktoren schaffen eine zu große Unsicherheit, als dass das Verhältnis zwischen $\delta^{18}\text{O}_{\text{Carbonat}}$ und $\delta^{18}\text{O}_{\text{Phosphat}}$ als zuverlässiger Diageneseindikator empfohlen werden kann. Jedoch könnte der Differenzwert aus

⁶⁵ Die vier hinsichtlich ihrer vergleichsweise positiven $\delta^{13}\text{C}$ -Werte auffälligen Proben, welche ein Kollagen-Carbonat-Spacing zwischen 4,5 und 5,5 aufwiesen, könnten sich somit fettärmer ernährt haben als der Durchschnitt des Kollektivs. Eventuell sind auch Störungen des Fettstoffwechsels zu berücksichtigen, welche durch Erkrankungen von Pankreas, Galle, Darm oder Leber hervorgerufen werden können (Wendt-Breslau 2013). Dies würde zu den histopathologischen Auffälligkeiten der Proben WF 21a (negativere $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$ -Werte) und WF 45 (positivere $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$ -Werte) passen und könnte auf ein generelles metabolisches Problem hindeuten, da hier auch das C/P-Verhältnis im Vergleich zu den restlichen Proben eine deutliche Erniedrigung aufwies (vgl. 5.1.4.3).

⁶⁶ Auch hier gilt, dass die in einer modernen Gesellschaft genutzten Nahrungsmittel und auch das konsumierte Wasser aufgrund der Globalisierung der Märkte und der individuellen Selektionsmöglichkeiten so gut wie nicht eingegrenzt werden können. Im Zuge der experimentellen hydrolytischen Degradation wurde der $\delta^{18}\text{O}$ -Wert des lokalen Leitungswassers bestimmt ($\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}} = -7,1 \text{ ‰}$). Da die Wasserprobe jedoch auf der Heizplatte eingedampft wurde, könnte dieser Wert eine leichte Anreicherung hinsichtlich des schweren Sauerstoffisotops aufweisen, wie sie auch bei gekochten Nahrungsmitteln zu beobachten ist (z.B. Daux et al 2008). Die meisten Proben des Westfriedhofs dagegen wiesen deutlich niedrigere $\delta^{18}\text{O}$ -Werte auf, was auf den Konsum von in Flaschen abgefülltes Wasser aus Gebirgsregionen (Mineralwasser) hindeuten könnte (1.4.2, Bowen et al. 2005).

Lediglich eine Probe des Westfriedhofs zeigte sowohl nach der Analyse der Sauerstoffisotopie des Carbonats als auch des Phosphats im Vergleich zu den restlichen Proben auffällige Werte (jeweils Anreicherung). Jedoch kann aufgrund der Fundsituation in einem Zinksarg davon ausgegangen werden, dass es sich um eine Überführung aus dem Ausland gehandelt hat und das Individuum vermutlich eine längere Zeit in einem wärmeren Klima verbracht haben könnte.

den oben genannten Gründen auch Hinweise auf pathologische Vorgänge liefern. Die Probe WF 21a zeigte im histologischen Bild deutliche Anzeichen für einen gestörten Knochenstoffwechsel, welcher eventuell auf renale Osteopathie zurückzuführen sein kann. Neben zahlreichen, den kompletten Knochenquerschnitt durchziehenden Haltelinien wies die Probe auch einen sehr geringen Anteil sekundären Knochens auf. Die Tibia zeigte zudem makroskopisch eine sehr geringe Dicke, das Gewebe war weich und biegsam. Dies deutete bereits auf einen zu geringen Mineralisierungsgrad des Knochens hin. Da die Entstehung von Haltelinien bei erwachsenen Individuen laut Doppler (2008) in der Jugend stattgefunden haben muss, kann davon ausgegangen werden, dass der Knochen des 67-jährigen Mannes seit seiner Kindheit nahezu keinen Umbau erfahren hat. Dies spricht für eine frühzeitige Immobilisierung der unteren Gliedmaßen, da so die für den Umbau des Knochens nötigen biomechanischen Reize ausblieben (vgl. auch Individuum OTZ 1, Seite 205). Weiterhin zeichnete sich die Probe durch ein auffällig niedriges C/P-Verhältnis aus, was auf einen von der Norm abweichenden Phosphathaushalt des Knochens hindeutet (vgl. 5.1.4.3). Die Krankheit wirkte sich somit augenscheinlich nicht nur auf die absolute Zusammensetzung des Knochenminerals aus, sondern bewirkte wohl auch eine gewisse Fraktionierung der Sauerstoffisotope.

Beurteilung der Sauerstoffisotopie der archäologischen Proben

Bei den archäologischen Proben fiel hinsichtlich der Isotopie der stabilen Kohlenstoffisotope zunächst auf, dass das Kollagen-Carbonat-Spacing insgesamt höhere Werte ergab als für die modernen Proben des Westfriedhofs. Dies würde insofern Sinn ergeben, als dass die Ernährung der Menschen in historischer Zeit weniger fettreich war als die Überflusssdiät postmoderner Gesellschaften und damit der Anteil des schweren Kohlenstoffisotops des strukturellen Knochencarbonats im Vergleich höher war.

Die grafische Auswertung der einzelnen Fundorte ergab teilweise eine gewisse Streuung der Werte, und einige Knochen hoben sich in Bezug auf ihre Kohlenstoff-Isotopensignatur von den restlichen Proben des Fundorts ab, was eine potenzielle diagenetische Beeinflussung der Werte andeuten könnte (siehe 4.1.4.2, Seite 132, Tabelle 4.9).

Die vergleichsweise Anreicherung des schweren Isotops bei MWL 137 korrespondierte mit einem auffällig niedrigen C/P-Verhältnis ($< 0,60$). Wie im Fall der beiden Proben des Westfriedhofs, bei welchen dieselben Auffälligkeiten auftraten, ergab die Auswertung der histologischen Schnitte der Probe das Auftreten zahlreicher periostal angeordneter Haltelinien. Es ist daher auch hier anzunehmen, dass eine renale Osteopathie mit systemischen Störungen des Phosphatstoffwechsels zu den erniedrigten C/P-Werten und der Beeinflussung des $\delta^{13}\text{C}$ -Werts des strukturellen Carbonats geführt haben dürfte (siehe auch 5.1.4.3).

Laut Wright und Schwarcz (1996) könnte eine Abreicherung des schweren Kohlenstoffisotops, wie sie bei beispielsweise im Fall von BrA 12 beobachtet wurde, auf das im Boden vorkommende Bicarbonat zurückzuführen sein, welches durch die Oxidation von botanischem Detritus aus C3-Pflanzen einen mit 26 ‰ sehr negativen $\delta^{13}\text{C}$ -Wert aufweist, welches das biogene Kohlenstoff-Isotopensignal des Knochens in den negativen Bereich verschoben haben könnte. Dabei kann das

Bicarbonat adsorptiv an die Oberfläche der Knochenkristallite gebunden sein oder unter der Bildung authigener Carbonatminerale in den Hohlräumen des Knochens auftreten. Der erste Fall ist eher unwahrscheinlich, da im Zuge der Behandlung des Knochens vor der massenspektrometrischen Messung adsorptives Carbonat durch den verwendeten sauren Puffer entfernt werden sollte. Jedoch konnten bei der Probe BrA 12 im Rahmen der histologischen Untersuchung des Knochens zahlreiche Kristallaggregate innerhalb der Havers'schen Kanäle, Resorptionslakunen und entlang des endostalen Rands beobachtet werden. Alle Proben des Fundortes Bruchsal wiesen authigene Kristallformation innerhalb des Knochenquerschnitts auf, und alle bis auf eine Ausnahme wurden aufgrund von Verschiebungen des C/P-Verhältnisses oder der ν_2 -Carbonatbande als potenziell isotopisch verändert klassifiziert (vgl. 4.4.2 und insbesondere 5.3.2), fielen in der grafischen Auswertung jedoch nicht auf. Die einzige Probe, welche nicht als verändert eingeschätzt wurde, BrA 11, zeigte jedoch einen auffälligen $\delta^{18}\text{O}$ -Wert, welcher eine im Vergleich zu den restlichen Proben deutliche Abreicherung von ^{18}O aufwies. Es ist daher anzunehmen, dass dieser Wert eher dem biogenen Isotopensignal entsprach, während das Sauerstoffisotopenverhältnis der restlichen Proben eine Anreicherung erfahren hat.

Dagegen sprechen jedoch zwei Überlegungen. Zum einen würde ein $\delta^{18}\text{O}$ -Wert von ca. 5 ‰, wie ihn die als potenziell verändert eingestuften Proben aufwiesen, eher zu den für die orographische Höhe von Bruchsal erwarteten lokalen Werten passen (siehe 4.1.4.2, Abb. 4.41, S. 135). Zum anderen spricht auch die Beobachtung von Wright und Schwarcz (1996) gegen eine diagenetische Anreicherung des Sauerstoff-Isotopenverhältnisses: Sollte im Laufe der diagenetischen Geschichte des Gewebes ein Austausch von Sauerstoffatomen zwischen dem Knochen und dem Umgebungsmilieu stattgefunden haben, sollte sich das Verhältnis der Sauerstoffisotope eher dem Wert für das meteorische Wasser der entsprechenden Region angleichen.⁶⁷

Individuum BrA 11 wurde in einer andern Studie im Zuge der Analyse der stabilen Strontium-Isotope des Zahnschmelzes als wahrscheinlich ortsfremd identifiziert, was den im Vergleich zu den anderen Individuen deutlich negativeren $\delta^{18}\text{O}$ -Wert erklären könnte (Keller et al. 2015). Da in derselben Studie auch Individuum BrA 12, welches ebenso niedrige $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ -Wert aufwies wie BrA 11, als wahrscheinlich ortsfremd, isotopisch aber vermutlich diagenetisch verändert bestimmt wurde, könnte die postmortale Beeinflussung des *in vivo* erworbenen Sauerstoff-Isotopenverhältnisses geringer ausgefallen sein als zunächst angenommen (< 1 ‰), was die Interpretation der Daten in diesem Fall nicht verfälschen würde.

⁶⁷ Das Wasser, welches bestattete Körper beeinflusst und direkt aus dem Niederschlag stammt, ist in der Regel bezüglich des Sauerstoffs isotopisch wesentlich leichter als das Körperwasser, welches den Pool für die Sauerstoffatome des Knochens darstellt (Bryant und Froelich 1995). Trinkwasser wird selten direkt aus Niederschlagswasser gewonnen, sondern eher aus Wasserquellen, welche beispielsweise durch Evaporation eine Anreicherung des schweren Isotops erfahren haben. Auch die Erhitzung von Nahrung verstärkt diesen Effekt (Daux et al. 2008). Anhand des OIPC (Online Isotopes in Precipitation Calculator, <http://www.waterisotopes.org>) lässt sich der $\delta^{18}\text{O}$ -Wert (VSMOW) des meteorischen Wassers in Bruchsal-Aue berechnen (Bowen et al. 2005). Umgerechnet in VPDB (nach Hoefs 2009) ergibt sich daraus ein Wert von $\delta^{18}\text{O} = -37,8$ ‰. Die diagenetische Inkorporierung von Sauerstoffionen aus dem Umgebungswasser in das Knochenmineral sollte also eine deutliche Abreicherung der biogenen Isotopensignatur bewirken. Jedoch kann die Bildung authigener Kristalle eine gewisse Fraktionierung bewirken. Schwere Isotope gehen stärkere Kristallbindungen ein als leichte und die so gebildeten Kristalle sind somit auch resistenter gegen Dissolution (Hoefs 2009) und damit auch stabiler gegen die Auflösung im Zuge der Probenaufbereitung. Ob dies jedoch ausreichend ist, den Sauerstoff-Isotopenwert bei einer Vermischung mit der biogenen Isotopensignatur des Knochencarbonats um mehrere Promille anzureichern, ist fraglich.

5.1.4.3 Erkenntnisse aus der spektrometrischen Untersuchung

Experimentelle hydrolytische Degradation

Die durch thermisch-hydrolytische Einflüsse veränderten Proben zeigten bereits unmittelbar nach Versuchsbeginn nicht nur Modifikationen der organischen Matrix, sondern auch Reaktionen der Knochenkristallite, wie sie teilweise bereits in anderen Studien beschrieben wurden (Roberts et al. 2002). Zu Beginn des Experiments nahmen Kristallinität und Kristallgröße zunächst ab, während das Carbonat/Phosphat-Verhältnis anstieg. Dies deutet, wie bereits in Kapitel 5.1.4.2 diskutiert, auf einen Nettoanstieg der Gesamt-Carbonatbilanz des Knochens hin, da die Inkorporierung von Carbonat in das Kristallgitter von Hydroxylapatit zu einer zunehmenden Verzerrung der Struktur führt, was sich als limitierender Faktor auf die mögliche Größe der Kristallite auswirkt (vgl. 1.2.1.2, Wopenka und Pasteris 2005).

Möglich ist, dass das im als Medium verwendeten Leitungswasser enthaltene gelöste Hydrogencarbonat zunächst mit der äußeren Hydrathülle der Kristalle reagierte. Diese umgibt *in vivo* die Oberfläche der Nanokristalle des Knochens und stellt durch die Zusammensetzung aus freien Ionen (Ca^{2+} , HPO_4^{2-} , CO_3^{2-}) ein metastabiles Gleichgewicht zwischen der Knochenoberfläche und dem umgebenden Milieu her (Grunenwald et al. 2014, Rey 1990, Rey et al. 1991). Aufgrund der erhöhten Temperatur könnte es zu einer Entfernung der Ionen der Hydrathülle und einem Austausch mit Carbonationen aus dem Wasser gekommen sein, welche so in die Knochenkristalle integriert worden sein müssen, dass sie im Zuge der weiteren Probenaufbereitung nicht entfernt werden konnten. Der Anstieg des prozentualen Anteils der anorganischen Knochenfraktion sowie die Verschiebung des $\delta^{18}\text{O}$ -Werts in den negativeren Bereich würden zu dieser Annahme passen. Im Verlauf des Experiments wurde dieser Vorgang jedoch unterbrochen, da ein kurzer Anstieg der Kristallinität und Kristallgröße und eine Abnahme des C/P-Verhältnisses zwischen dem 6. und 12. Inkubationstag festgestellt wurden, was den Verlust von Carbonat aus den Kristallen reflektiert. Eventuell wurde in diesen Proben das aus dem Umgebungswasser neu in den Kristall eingelagerte Carbonat erneut entfernt, was auch mit dem wiederholten Anstieg des $\delta^{18}\text{O}$ -Werts korrespondierte. Die Tatsache, dass sich anschließend die Kristallinität kurzfristig erneut verringerte und das C/P-Verhältnis erhöhte, könnte darauf hindeuten, dass sich die beobachteten Veränderungen bis zu diesem Punkt auf die Hydrathülle der Nanokristalle und die sich unmittelbar an die Knochenoberfläche anschließenden Bereiche wie physiologische Kanäle und Poren beschränkten. Der rapide Anstieg der Kristallinität und Kristallgröße bzw. die Abnahme des C/P-Verhältnisses nach dem 16. Inkubationstag sprechen für einen plötzlichen, massiven Verlust von Carbonationen aus dem Knochen. Hier wird nun vermutet, dass im Zuge der ebenso deutlichen Degradation der organischen Komponente des Gewebes (siehe 5.1.3.1) zu diesem Zeitpunkt die Knochenkristallite immer stärker dem degradativen Effekt des umgebenden Wassers ausgesetzt waren, auch jenseits der physiologischen Hohlräume, was die Kompositstruktur des Gewebes immer mehr auflöste. Die Nanokristalle vergrößerten sich nach dem Prinzip der Ostwald-Reifung, um einen thermodynamisch stabileren Zustand zu erreichen (1.3.2, Grunenwald et al. 2014), was wiederum die Porosität des Knochens erhöhte und den Verlust der Organik beschleunigte. Daraus ergab sich ab

einem kritischen Punkt eine sich nach dem Schneeballsystem potenzierende Degradation des Gewebes.

Es fiel auf, dass sich die Position der ν_2 -Carbonatbande bis zum 20. Versuchstag prinzipiell an dem Verlauf des C/P-Verhältnisses orientierte, wobei ein Ansteigen des C/P-Werts mit einer Verschiebung der Bande in höhere Wellenzahlenbereiche korrespondierte und eine Erhöhung des Carbonatanteils der Kristalle andeutete. Ab dem 20. Inkubationstag jedoch konnte die deutliche Verschiebung der Carbonatbande mit dem Anstieg der Kristallinität in Verbindung gebracht werden. Dies spricht dafür, dass die ν_2 -Carbonatschwingung nicht nur Typ A- und Typ B-Carbonatsubstitutionen anzeigt, sondern auch labiles Carbonat, welches adsorptiv mit den Kristallen assoziiert ist (Grunenwald et al. 2014). Für eine genauere Charakterisierung der Bandenverschiebung und für die Identifikation von deren Ursache wäre jedoch die Untersuchung der Bande mittels Kurvenanpassungsverfahren nötig, im Zuge derer die unter der Bande liegenden Peaks zugeordnet werden könnten. Der hoch signifikante Zusammenhang zwischen der Position der ν_2 -Carbonatschwingung und dem prozentualen Kollagengehalt der Proben ist vermutlich nur sekundär durch die simultane Zunahme der Kristallinität zu werten.

In den über längere Zeiträume inkubierten Proben (ab Tag 20 bzw. 24) wurde außerdem ein immer deutlicher hervortretender neuer Peak sichtbar, welcher OH⁻ zugeordnet wird und sich durch die Reduktion des Wasser-Signals in einem Wellenzahlenbereich von 3600 cm⁻¹ manifestierte. Normalerweise kann ein Signal an dieser Stelle nur in synthetischem Hydroxylapatit nachgewiesen werden (1.5.2). Zwar konnte in diesem Zusammenhang eine hoch signifikante Korrelation mit der Kristallinität der Probe und der Position der $\nu_2\text{CO}_3^{2-}$ -Bande hergestellt werden, jedoch stand dieses Merkmal wiederum auch mit der degradativen Reduktion der organischen Matrix in Verbindung.

Die Ursache für die Reduktion des Wassergehalts der Probe, welche die OH⁻-Bande sichtbar werden lässt, ist jedoch nicht geklärt. Es ist bekannt, dass Kollagen unter physiologischen Bedingungen in hydrierter Form vorliegt und zahlreiche Aminosäuren für die Anlagerung von Wasser an das Molekül verantwortlich sind. So können die Carbonylgruppe von Glycin sowie die der Aminosäure an der dritten Position der repetitiven Einheit (Hydroxyprolin) Wassermoleküle binden. Ebenso kann dies durch die N-H-Gruppen der Reste an den Positionen 2 und 3 sowie diversen geladenen Gruppen von Aminosäure-Seitenketten geschehen (Berendsen 1962). Der Verlust der entsprechenden Aminosäuren führt auch zu einer Entwässerung des Moleküls. Es ist jedoch auch denkbar, dass mit den Nanokristallen assoziiertes Wasser, welches eventuell in der „Channel Site“ der Kristallgitter eingelagert ist (1.2.1.2), durch die zunehmende Umstrukturierung der Kristalle entweicht bzw. durch Carbonat ersetzt wird, was einer Typ A-Substitution gleich käme. Die Zunahme von Typ-A-Carbonat an der „Channel-Site“ könnte wiederum für die Verschiebung der $\nu_2\text{CO}_3^{2-}$ -Schwingung verantwortlich sein.

Die Raman-Spektren der über längeren Zeitraum in Wasser gekochten Proben wiesen keine gravierenden Unterschiede auf. Die deutlichste Veränderung jedoch war die Veränderung der Halbwertsbreite (FWHM) der Hauptphosphatbande, welche am 8. und 12. Versuchstag deutliche Einbrüche des Werts zeigte und ab dem 20. Versuchstag schließlich signifikant abnahm und unter den von Thomas et al. (2007) für unverändertes Knochenmineral postulierten Wert von 15 fiel

(vgl. 1.5.2). Laut Freeman et al. (2001) soll die Abnahme der Halbwertsbreite der symmetrischen P-O-Dehnungsschwingung eine Zunahme der Kristallinität reflektieren, da die Breite des Peaks vom Ausmaß der Carbonatsubstitutionen im Kristallgitter abhängt (Wopenka und Pasteris 2005). Tatsächlich entsprach der Verlauf der Halbwertsbreite der Phosphatbande weitgehend dem inversen Verlauf der anhand der FTIR-Messungen determinierten Kristallinität. Dies wiederum ließ sich mit dem Verlust der organischen Komponente des Knochens in Relation setzen, was die Vergrößerung der Knochenkristallite beförderte.

Experimentelle bakterielle Degradation

Die Messung der experimentell mit Bakterien angeimpften Knochen bereitete im nativen, unbehandelten Zustand diverse Probleme. Das knochenspezifische Signal schien teilweise von einer offenkundigen organischen Kontamination überlagert zu sein, welche sich besonders deutlich in den mit *S. griseus* und *P. fluorescens* beimpften Knochen zeigte. Dies könnte eventuell auf die Detektion von Antibiotika zurückzuführen sein, da nicht nur *S. griseus* in der Lage ist, antimikrobielle Substanzen zu produzieren, sondern auch für *P. fluorescens* die Produktion von Antibiotika nachgewiesen ist (Sutherland et al. 1985).⁶⁸

Die weitere Auswertung der mineralischen Parameter erfolgte daher anschließend an dem nach Kapitel 3.7 deproteiniertem Knochenpulver. Die in der Mehrzahl der Fälle beobachtete Zunahme der Kristallinität des Knochenminerals, welche teilweise mit einer deutlichen Absenkung des C/P-Verhältnisses einherging, ist indikativ für einen Verlust von Carbonationen aus den Nanokristallen. Vermutlich verursachten die durch die Mikroorganismen produzierten Säuren eine lokale Anlösung des Minerals mit einer Umwandlung eines Teils des strukturellen Carbonats in CO₂. Das carbonatärmere Rekristallisationsprodukt konnte somit unter einer thermodynamisch günstigeren Konformation größere, weniger verzerrte Kristalle ausbilden.

Da dieser Effekt am stärksten bei einer unter anaeroben Bedingungen inkubierten Kontrolle auftrat, ist davon auszugehen, dass nicht nur die Bakterien in der Lage waren, das Knochenmineral derart anzugreifen, sondern auch mykotische Organismen. Jedoch war bei dieser Probe keine Veränderung der Isotopenwerte von Kohlenstoff und Sauerstoff zu beobachten, weshalb die Produktion von Oxalsäure durch den Pilz eher ausgeschlossen und eine andere organische Säure wie Fumarat oder Citrat in Betracht gezogen wird (Li und Punt 2013).

Der Anstieg des C/P-Verhältnisses über einen Wert von 0,9 in manchen Proben, welcher ausschließlich bei anaerob inkubierten Knochen auftrat und alle mit *C. histolyticum* beimpften Proben betraf, könnte prinzipiell durch einen Nettogewinn von Carbonat bzw. einen Verlust von Phosphat aus dem Knochen erklärt werden. Die Kristallinität der entsprechenden Proben nahm ebenfalls zu, jedoch in geringerem Ausmaß. Dies deutet eher darauf hin, dass die Verschiebung des Ionenverhältnisses auf die Beeinflussung des Phosphats zurückzuführen sein muss, da eine Anreicherung von Carbonat in den Kristalliten zu einer weiteren Verkleinerung der Struktur und damit

⁶⁸ Hierbei handelt es sich um das unter anderem gegen multiresistente *Staphylococcus aureus* (MRSA)- Stämme angewandte Mupirocin, auch als Pseudomonsäure A bezeichnet (Franklin und Snow 1998).

einer abnehmenden Kristallinität führen würde. *Clostridium histolyticum* ist dafür bekannt, im Zuge des Abbaus von Aminosäuren, insbesondere Threonin, bedeutende Mengen von Acetat zu produzieren (Elsden und Hilton 1978), welches sich negativ auf das Knochenmineral auswirken könnte. Jedoch zeigte sich in den entsprechenden Proben keine Reduktion des Threonins. Eine signifikante Reduktion des Phosphatgehalts ohne adäquaten Ersatz würde die Nanokristalle zu stark destabilisieren und höchst wahrscheinlich zu einer fundamentalen Umstrukturierung des Minerals führen, was in den FTIR- und auch Raman-Spektren zutage treten müsste und nicht der Fall war. Es fiel jedoch weiterhin auf, dass die Position der ν_2 -Carbonatbande unter anderem bei allen *C. histolyticum*-Proben in höhere Wellenzahlenbereiche verschoben war, was prinzipiell auf eine Modifikation der Typ A- und/oder der Typ B-Carbonatumgebung hindeutet.

Bei drei Proben, darunter wiederum auch ein mit *C. histolyticum* beimpfter Knochen, zeigten eine schwache akzessorische OH-Bande im Wellenzahlbereich um 3600 cm^{-1} , wie sie bereits bei den über einen längeren Zeitraum experimentell hydrolytisch degradierten Proben beobachtet wurde (siehe 4.1.4.3, Seite 136). Im Gegensatz zu den unter hydrolytischen Bedingungen degradierten Proben konnte hier kein Zusammenhang mit der Degradation der organischen Matrix oder Veränderungen der Kristallinität bzw. des C/P-Verhältnisses festgestellt werden, jedoch war auch hier die $\nu_2\text{CO}_3^{2-}$ -Bande in höhere Wellenzahlenbereiche verschoben.

Dies könnte die Theorie unterstützen, dass die Detektion der zusätzlichen OH-Bande, welche mit der Reduktion des Wasser-Signals in diesem Bereich des Spektrums korrespondiert, auf einer Entwässerung des Kristalls durch den Verlust von H_2O -Molekülen an der Channel-Site der Kristallite beruht. Die so entstehende Vakanz könnte durch freies Hydrogencarbonat besetzt werden, welches somit der Typ A-Position des Carbonats entspricht und für die Verschiebung der $\nu_2\text{CO}_3^{2-}$ -Bande verantwortlich sein könnte. Der Mechanismus, welcher zu dieser potenziellen Entwässerung führen könnte, ist jedoch unklar.

Im Zuge der Raman-Analysen konnten innerhalb des Kollektivs Variationen in der Halbwertsbreite des Raman-Hauptpeaks beobachtet werden, wobei sich der Peak bei den auffälligen Proben stets verbreiterte. Anders als bei den hydrolytisch degradierten Proben konnte in diesem Fall allerdings kein Zusammenhang zwischen der nach der FTIR-Messung bestimmten Kristallinität und der Halbwertsbreite des Peaks gefunden werden. Statt der nach Freeman et al. (2001) postulierten Abnahme der Kristallinität bei einer Verbreiterung des Raman-Hauptphosphatpeaks konnte in zwei Proben stattdessen eine Zunahme beobachtet werden. Wie bereits weiter oben diskutiert, korrespondierte die Zunahme der Kristallinität in der Regel mit der Abnahme des C/P-Verhältnisses, was prinzipiell den Verlust von Carbonat aus dem Knochen andeutet. Jedoch zeigten auch jene Knochen mit erhöhter Halbwertsbreite der ν_1 -Hauptphosphatschwingung zumeist ein erniedrigtes C/P-Verhältnis. Und auch das Verhältnis der stabilen Sauerstoffisotope war zumeist deutlich hinsichtlich des schweren Isotops abgereichert. Dies könnte ein weiteres Indiz dafür sein, dass im Zuge der mikrobiellen Degradation produzierte Säuren das Knochenmineral auflösen (siehe 5.1.4.2) und hierdurch nicht nur die Carbonatumgebung der Kristallite, sondern auch die Phosphatgruppen signifikant beeinflussen können, wie es bereits von mehreren Autoren vermutet wurde (z.B. Zazzo et al. 2004a).

Drei der experimentell bakteriell degradierten Proben wiesen zudem eine relative Blauverschiebung der Raman-Hauptphosphatbande auf, jedoch waren dies nicht dieselben Knochen, bei welchen eine Verbreiterung des Peaks bzw. Veränderungen des C/P-Verhältnisses festgestellt wurden. Nach Thomas et al. (2007) soll dies ein Hinweis auf die Konformationsänderung der Knochenkristallite durch Verzerrungen sein, welche durch die Inkorporierung von Anionen-Kontaminationen entstehen, hauptsächlich Fluorid. Diese verändern das Kristallfeld des im Gitter gebundenen Phosphats und führen damit zu einer Verschiebung der ν_1 -Bande. Jedoch konnten an den Spektren der betroffenen Proben keine weiteren Abweichungen zu den frischen Referenzknochen ausgemacht werden. Auch konnten keine unmittelbaren Zusammenhänge mit sonstigen Veränderungen der organischen oder anorganischen Matrix hergestellt werden.

Bodengelagerte Proben

Die frühdiagenetisch beeinflussten Proben des Westfriedhofs zeigten insgesamt recht homogene Kristallinitätswerte, wobei interessanterweise der mit $CI = 2,6$ höchste Wert von der Probe mit der längsten (PMI = 60 Jahre) und den beiden Knochen mit der kürzesten Liegezeit (PMI = 8 bzw. 9 Jahre) gezeigt wurde. Da die Knochen mit der kürzesten Liegezeit ebenso Auffälligkeiten hinsichtlich des Kollagenerhalts aufwiesen (vgl. 5.1.3.1), könnte dies ein weiteres Indiz dafür sein, dass das Gewebe sowohl hinsichtlich der organischen als auch der anorganischen Matrix im Zuge der Dekomposition des Weichgewebes und der so entstehenden sauren Verwesungsprodukte derart vorgeschädigt sein könnte, dass die Behandlung des Knochenpulvers mit Ca-Acetat-Essigsäurepuffer zur anschließenden Probenaufbereitung zu einer leichten Vergrößerung der Knochenkristallite führen kann. Dies wurde bereits durch Nielsen-Marsh und Hedges (1997) vermutet. Eventuell bewirkt ein Aufquellen der Kollagen-Tripelhelices, dass die Verbindung zwischen dem Polypeptid und den Mineralplättchen gelockert wird, was wiederum die Angriffsfläche exogener Noxen auf die Kristalle erhöht. Es ist denkbar, dass sich dieser Zustand durch den Wegfall der Einwirkung der sauren Dekompositionsflüssigkeiten nach abgeschlossener Weichgewebsdegradation wieder aufhebt und sich das Kompositgewebe beispielsweise durch ein Zusammenziehen der Kollagenfibrillen im Zuge der Austrocknung erneut stabilisiert.

Bei dem leicht erhöhten Kristallinitätswert der diagenetisch ältesten Probe des Westfriedhofs könnte es sich dagegen um die bereits mehrfach beschriebene spontane, leichte Vergrößerung der Knochenkristallite der frühen postmortalen Phase handeln, welche dem Prinzip der Ostwald-Reifung folgt (z.B. Trueman et al. 2008, 1.3.2.1). Dies deckt sich auch mit der Beobachtung, dass die Mehrzahl der archäologischen Proben insgesamt leicht höhere Kristallinitätswerte aufwies als die Knochen des Westfriedhofs, wobei keine der Proben den in der Literatur definierten Grenzwert für „unverändertes Mineral“ überschritt.

Zwar bestand hinsichtlich des Gesamtprobenkollektivs ein hoch signifikanter Zusammenhang zwischen der Kristallinität der Proben und deren Liegezeit, jedoch galt dies nicht für die beiden einzelnen Stichproben, womit die von Patonai et al. (2012) vorgeschlagene Eingrenzung der Liegezeit anhand des Kristallinitätswerts als in der Praxis nicht durchführbar widerlegt wurde.

Die Tatsache, dass auch kein unmittelbarer Zusammenhang zwischen der Kristallinität und dem Organik-Gehalt des Knochens hergestellt werden konnte (siehe 4.2.6, Seite 159), unterstreicht, dass die Diagenesevorgänge in bodengelagertem Material nicht mit dem einfachen Modell der hydrolytischen Degradation vergleichbar sind, bei welcher eine Vergrößerung der Knochenkristallite mit dem Verlust der Kollagenfibrillen einhergeht.

Die Aktivität von Mikroorganismen spielt eine entscheidende Rolle für das Erscheinungsbild der Knochenkomponenten nach längeren Liegezeiten. So zeigten die vier archäologischen Proben mit den höchsten Kristallinitätswerten ($CI = 2,9$) teilweise sehr hohe Ausbeuten organischer Substanz, wobei die veränderten Werte des prozentualen Kohlenstoff- und Stickstoffanteils einen gewissen Grad an exogener organischer Kontamination anzeigten. Jedoch ließen sich diese auch nicht im Rahmen der Aminosäureanalyse darstellen, da diese entweder im Zuge der Hydrolyse zerstört werden oder der Abbau biogener Aminosäuren durch den Eintrag exogener Moleküle mehr oder weniger ausgeglichen wird.

Es fiel jedoch auf, dass die Proben mit erhöhten Kristallinitätswerten meist auch eine akzessorische OH-Bande im Wellenzahlbereich um 3600 cm^{-1} aufwiesen, was den Verlust strukturell assoziierten Wassers anzeigt, und in der Regel auch ein erniedrigtes C/P-Verhältnis hatten. Dies deutet auf den Verlust von Carbonat aus dem Knochen hin, was auch zu den erhöhten Kristallinitätswerten passen würde, da der Verzerrungsgrad der Nanokristalle mit abnehmendem Carbonatgehalt geringer wird und die Kristalle damit größer werden können.

Sowohl bei den Proben des Westfriedhofs als auch den archäologischen Knochen konnte ein statistischer Zusammenhang zwischen der Kristallinität bzw. Größe der Knochenkristalle und dem Individualalter bestätigt werden, wobei bei älteren Individuen (Altersklasse *Senilis*) Mineral mit geringerer Kristallinität nachgewiesen werden konnte als in den jüngeren Altersklassen. Dies kann dadurch erklärt werden, dass der Gehalt des inkorporierten Carbonats des Knochenminerals zu Ungunsten labiler Ionen mit dem Alter zu- und die Kristallinität dadurch abnimmt (Boskey und Coleman 2010, Rey et al. 1991). Osteoporose hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Kristallinität und damit die Zusammensetzung des Knochenminerals.

Es bestand weder ein statistischer Zusammenhang zwischen vor allem periostal beobachtbaren Rekristallisationsphänomenen noch mikroskopisch belegter authigener Kristallformation innerhalb der Compacta und der Kristallinität der Proben. Das C/P-Verhältnis wurde im Gegensatz dazu jedoch deutlich hiervon beeinflusst. Im Gegensatz zu den erniedrigten Werten, wie sie in Verbindung mit einer Erhöhung der Kristallinität festgestellt wurden, konnte bei einem deutlich erhöhten C/P-Verhältnis in keinem Fall eine auffällig erhöhte Kristallinität festgestellt werden, jedoch wiesen alle Proben des archäologischen Kollektivs mit $C/P > 0,85$ mikroskopisch nachweisbare authigene Kristallbildung auf und reflektieren damit die Kontamination mit carbonathaltigen Fremdmineralphasen. Bei C/P-Werten $> 0,90$ wurde zudem in den entsprechenden FTIR-Spektren ein Calcit-typischer Peak identifiziert. Die dominanten, für reinen Calcit typischen Banden werden in einem Bereich von 1409 cm^{-1} , 875 cm^{-1} und 725 cm^{-1} detektiert (Rodriguez-Blanco et al. 2011). Dies betrifft damit nicht den Wellenzahlenbereich, welcher für die Berechnung der Kristallinität von Knochenmaterial verwendet wird ($\sim 565\text{--}605\text{ cm}^{-1}$, 1.5.2), sehr wohl aber jenen für die Bestimmung des C/P-Verhältnisses ($\sim 565\text{--}605$ und $1425\text{--}1460\text{ cm}^{-1}$, 1.5.2), weshalb hier

durch eine Überlagerung der knochentypischen Peaks mit dem Calcit-Hauptpeak eine Beeinflussung des C/P-Verhältnisses festgestellt werden kann.

Da die Fremdkristalle authigener Natur sind und keine Fremdionen in das Knochenmineral integriert werden, bleibt die Kristallinität des Knochens unbeeinflusst. In allen betroffenen Proben konnte, mit einer Ausnahme, die Kontamination im Zuge der Probenaufbereitung entfernt und das C/P-Verhältnis abgesenkt werden.

Die Kontamination der Probe BrA 3, welche nicht auf Calcit, sondern auf ein anderes carbonathaltiges Mineral zurückzuführen sein dürfte, konnte nicht näher eingegrenzt werden. Für die genaue Identifizierung wären umfassende röntgendiffraktometrische Untersuchungen notwendig. Jedoch konnte auch bei dieser Probe die Kontamination im Zuge der Probenaufbereitung eliminiert werden. Im Gegensatz zu den mit Calcit verunreinigten Knochen zeigte sich hier jedoch nach der Aufbereitung eine Zunahme der Kristallinität. Dies deutet darauf hin, dass die Behandlung des Knochens mit Ca-Acetat-Essigsäurepuffer bereits angelöste bzw. rekristallisierte Kristallaggregate entfernte und nur der hypermineralisierte Bioapatit zurückblieb (Nielsen-Marsh und Hedges 2000b).

Auch einige der Proben des Westfriedhofs zeigten auffällige C/P-Werte, jedoch konnten diese nicht auf mineralische Kontaminationen zurückgeführt werden. Erhöhte Werte ($C/P > 0,80$) waren stets mit mehr oder weniger deutlichen, für Fettsäuren typischen Peaks in den FTIR-Spektren assoziiert. Die zunächst vermutete Kontamination der vor der Messung hergestellten Presslinge beispielsweise durch Hautfette konnte widerlegt werden. Die histologische Untersuchung aller betroffenen Proben ergab eine flächendeckende Durchdringung der Knochencompacta mit Fettwachs, welches auch im Zuge der Entfettung der Proben mit Diethylether nicht eliminiert werden konnte (vgl. 5.1.2.2, siehe auch van Klinken 1999). Henderson et al. (2013) machten in ihrer Studie an Skelettmaterial aus dem 19. Jahrhundert dieselbe Beobachtung und führten die detektierten Signale ebenso auf Fettwachs zurück. Durch die Deproteinierung der Proben im Zuge der weiteren Aufbereitung wurde das C/P-Verhältnis in den normalen Bereich abgesenkt, lediglich in einem Fall wurden aufgrund der hohen chemischen Resistenz von Adipocire die Fettsäuren nicht vollständig aus dem Knochen entfernt, und das C/P-Verhältnis blieb aufgrund des Überschusses von Kohlenstoff erhöht.

Erhöhte C/P-Werte ($C/P > 0,9$) konnten tendenziell mit der Beschaffenheit des Liegemilieus korreliert werden und traten ausschließlich bei höheren pH-Werten des Bodens auf ($pH > 8,0$). Dies deckt sich mit der Tatsache, dass Adipocire eher unter leicht alkalischen Milieubedingungen entsteht (Mellen et al. 1993).

Die beiden Proben des Westfriedhofs, welche durch niedrigere C/P-Werte auffielen als die restlichen Knochen des Kollektivs ($C/P = 0,67$), zeigten im histologischen Bild deutliche Anzeichen von systemischen Erkrankungen, welche vermutlich auf renale Dysfunktion zurückgehen. Niereninsuffizienz wirkt sich fundamental auf den Phosphathaushalt des Körpers aus und kann so bei chronischem Verlauf auch die Zusammensetzung des Knochengewebes beeinflussen (Brandenburg und Floege 2009). Auch hinsichtlich des Verhältnisses der stabilen Isotope von Kohlenstoff aus dem strukturellen Carbonat hoben sich diese beiden Proben von den übrigen ab, was für

einen gestörten Metabolismus bzw. andere Fraktionierungseffekte während der Kristallformation sprechen könnte (vgl. 5.1.4.2, Seite 219).

Dasselbe war bei den archäologischen Proben zu beobachten, welche ebenso erniedrigte C/P-Werte aufwiesen. Auch diese Proben zeigten Anzeichen sich an der Mikrostruktur des Knochens manifestierender pathologischer Geschehen in Form von Haltelinien. Auffällig war, dass jene Proben mit erniedrigtem C/P-Verhältnis nach der Probenaufbereitung eine noch stärkere Absenkung der Werte zeigten, was einen erhöhten Anteil labilen Carbonats anzeigen könnte, welcher im Zuge der Extraktion verloren geht.

Die Raman-Spektren der bodengelagerten Proben wichen generell nur sehr wenig voneinander ab, lediglich einige der archäologischen Proben wiesen diverse zusätzliche Signale auf, welche bei den restlichen Knochen der Stichprobe nicht detektiert wurden. Es war schwer, die Banden einem bestimmten Mineral zuzuordnen. Anhand der Software RDSS⁶⁹ konnte keine eindeutige Eingrenzung vorgenommen werden, jedoch ergab der Vergleich mit weiteren online-Datenbanken (RDRS⁷⁰, RRUFF⁷¹) mögliche Hinweise auf Spuren von Cuprit (Cu₂O) oder einem anderen Kupferoxid in den entsprechenden Knochen, was zumindest die Signale in den niedrigeren Wellenlängenbereichen erklären würde (Chrzanowski und Irwin 1989). Cuprit ist ein rötliches, häufig als Korrosionsprodukt von Bronze auftretendes Mineral und kann im Zuge der Exposition mit dem feuchten Bestattungsmilieu entstehen (Scott 2002). In den FTIR-Spektren zeigten sich keine für Cuprit typischen Banden, jedoch könnten diese durch das Signal des Knochenminerals überlagert werden. Für die endgültige Identifizierung der Fremdmineralphase müssten Mikrosonden-Rastermessungen vorgenommen werden.

Bei einigen der *in situ* degradierten Proben fiel weiterhin eine relative Verschiebung der ν_1 -Hauptphosphatbande auf, wobei im Gegensatz zu den bakteriell degradierten Proben ausschließlich eine Rotverschiebung beobachtet werden konnte. Dies wird in der Literatur, wie bereits weiter oben erwähnt, auf den Einbau von Fremdionen in das Kristallgitter der Knochenkristallite zurückgeführt.

Eine Verschiebung des Peaks in höhere Wellenlängenbereiche wird der Einführung jener Ionen zugeschrieben, welche die Größe der Einheitszellen verringern (King et al. 2011). Nach Thomas et al. (2007) sollen besonders die Kationen Ba²⁺, Mn²⁺ und Sr²⁺ für die Rotverschiebung des Phosphatpeaks Knochen verantwortlich sein, wobei nur die Substitution mit Mn²⁺ aufgrund des im Vergleich zu Calcium kleineren Atomradius zu einer Reduktion des Volumens der Einheitszellen führen würde. Außerdem schreiben die Autoren eine Verschiebung des Hauptphosphatpeaks lediglich fossilem Material zu, wobei in der vorliegenden Studie auch elf Proben mit Liegezeiten unter 60 Jahren eine deutliche Rotverschiebung des Peaks zeigten. Mit dem Alter und zunehmendem Umbau des Knochens nimmt dessen Gehalt an Barium zu (Manea-Kritchen et al. 1991), jedoch konnte kein Zusammenhang zwischen der Position des Peaks und dem Individualalter erkannt werden. Alkoholkonsum soll sowohl den Barium- als auch den Strontiumgehalt des Knochens negativ beeinflussen, während im Rattenmodell gezeigt wurde, dass eine proteinarme

⁶⁹ Raman Data Search and Storage, Version 09.2013

⁷⁰ Buzgar, N.; Apopei, A.I.; Buzatu, A. (2009): Romanian Database of Raman Spectroscopy (<http://rdrs.uaic.ro>).

⁷¹ Lafuente et al. (2015)

Ernährung zu einem Anstieg des Strontiumgehalts des Gewebes führt (Gonzalez-Reimers et al. 1999).

Es konnte nicht geklärt werden, ob die Rotverschiebung der Hauptphosphatbande auf diagenetische Vorgänge oder doch eher physiologische Unterschiede zurückgeführt werden kann, da auch eine an der Probe durchgeführte Mikrosondenmessung keine Erkenntnisse brachte.

Insgesamt zeigten die mittels Raman-Spektroskopie erhobenen Parameter die geringsten Korrelationen mit anderen Knochenmerkmalen. Dies kann daran liegen, dass für die Raman-Analysen Punktmessungen am ganzen Knochen durchgeführt wurden, während für alle anderen Verfahren der Knochen vor der Untersuchung pulverisiert wurde und somit eine Querschnittsanalyse repräsentierte. Der Aussagewert der Methodik für Diagenesestudien ist daher im Hinblick auf andere Verfahren als eher gering einzuschätzen.

5.2 Zusammenhänge diagenetischer Mechanismen

Die Ergebnisse aus den experimentellen Degradationsversuchen ergaben diverse Erkenntnisse im Hinblick auf die Interpretation der Daten der *in situ* degradierten Proben.

Wie bereits in anderen Studien deutlich wurde (z.B. Harbeck 2007), bestätigte sich ein greifbarer Unterschied zwischen den Resultaten der rein hydrolytisch degradierten und mikrobiell beeinflussten Proben. Es zeigte sich, dass im Fall der thermisch-hydrolytischen Degradation ein linearer Zusammenhang zwischen der Dekomposition der organischen und der anorganischen Matrix bestand und somit ein relativ einfach nachvollziehbares Modell der degradativen Mechanismen erstellt werden konnte (5.2.1). Die biogene Degradation dagegen zeigte keine strikt linearen Beziehungen zwischen dem Abbau der Knochenkomponenten, was die Interpretation der Ergebnisse und die Erstellung eines generalisierten Modells erschwerte (5.2.2).

5.2.1 Zusammenfassung der Simulation der hydrolytischen Degradation

Abb. 5.7 fasst die als statistisch hoch signifikant identifizierten Zusammenhänge zwischen den analysierten Parametern der organischen und anorganischen Knochenfraktion noch einmal schematisch zusammen und verdeutlicht die Kreuzbeziehungen zwischen den Merkmalen.

C/P-Verhältnis, welches relative Verluste von Carbonat aus den Kristalliten anzeigen sollte. Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass die Carbonatbande bei ca. 870 cm^{-1} tatsächlich sehr stark von labilem Carbonat dominiert sein dürfte, welches im Zuge der hydrolytischen Degradation vermutlich sehr schnell entfernt wird (5.1.4.3, Grunenwald et al. 2014).

Die Assoziation des Peaks mit dem Auftreten der OH-Bande bei ca. 3600 cm^{-1} könnte weiterhin darauf hindeuten, dass ursprünglich an der „Channel Site“ eingelagerte Wassermoleküle durch Carbonationen aus der Hydrathülle verdrängt werden könnten.

Aus den Erkenntnissen der experimentellen hydrolytischen Degradation konnte schließlich das in Abb. 5.8 dargestellte Übersichtsmodell des Degradationsverlaufs erstellt werden. Der Zusammenhang zwischen den Parametern der organischen und anorganischen Knochenfraktion zeigte sich linear, da durch den hydrolytischen Einfluss die Bindungen zwischen den Brückenmolekülen, hauptsächlich Proteoglycanen und Glycosaminoglycanen vermutlich unmittelbar nach Versuchsbeginn gespalten wurden und so sowohl das Kollagen als auch die Mineralplättchen leichter angreifbar waren (siehe 5.1.3.1). Die daraus resultierende Schwächung der Quervernetzung der Kollagenmoleküle, das Aufquellen der Tripelhelix und die Lockerung der Nanokristalle führten zunächst jedoch nicht zu einem Austreten größerer Mengen von Polypeptidfragmenten aus dem Knochen, da die initiale Modifikation der Werte (Einbruch %C, %N, Aminosäurekonzentration, Anstieg der Kristallinität, Abnahme des C/P-Verhältnisses) in den Proben des weiteren Versuchsverlauf nicht mehr zu beobachten war. Im Rahmen der Extraktion des Kollagens nach einer anderen als in dieser Arbeit angewandten Methodik, welche den Knochen schonender demineralisiert, da der Knochen hierfür nicht pulverisiert und eine schwächere, gekühlte Säure verwendet wird, waren zudem kaum Fluktuationen in den Kollagenparametern am Anfang des Versuchs erkennbar (Daten unveröffentlicht). Dies deutet weiterhin darauf hin, dass die Demineralisierung von bereits hydrolytisch vorgeschädigtem Kollagen mit 1 M HCl zu aggressiv sein könnte.

Nach der initialen Schädigung der Kollagenmoleküle und der Kristallinitätszunahme des Knochenminerals stabilisierte sich die Struktur vorübergehend, eventuell durch die Ausbildung thermisch induzierter Brückenbindungen zwischen Kollagen und Mineral oder dem Verschluss von Mikroporen durch die Vergrößerung der peripheren Knochenkristallite. Mit zunehmender Inkubationsdauer und dem damit verbundenen Materialverlust hob sich dieser Effekt jedoch wieder auf, und das Wasser konnte bis tief in die Struktur eindringen, was schließlich durch einen positiven Rückkoppelungseffekt zu einer rapiden Spaltung der Peptidbindungen des Kollagens und einer erhöhten Angreifbarkeit, Anlösung und Rekristallisation des Knochenminerals führte.

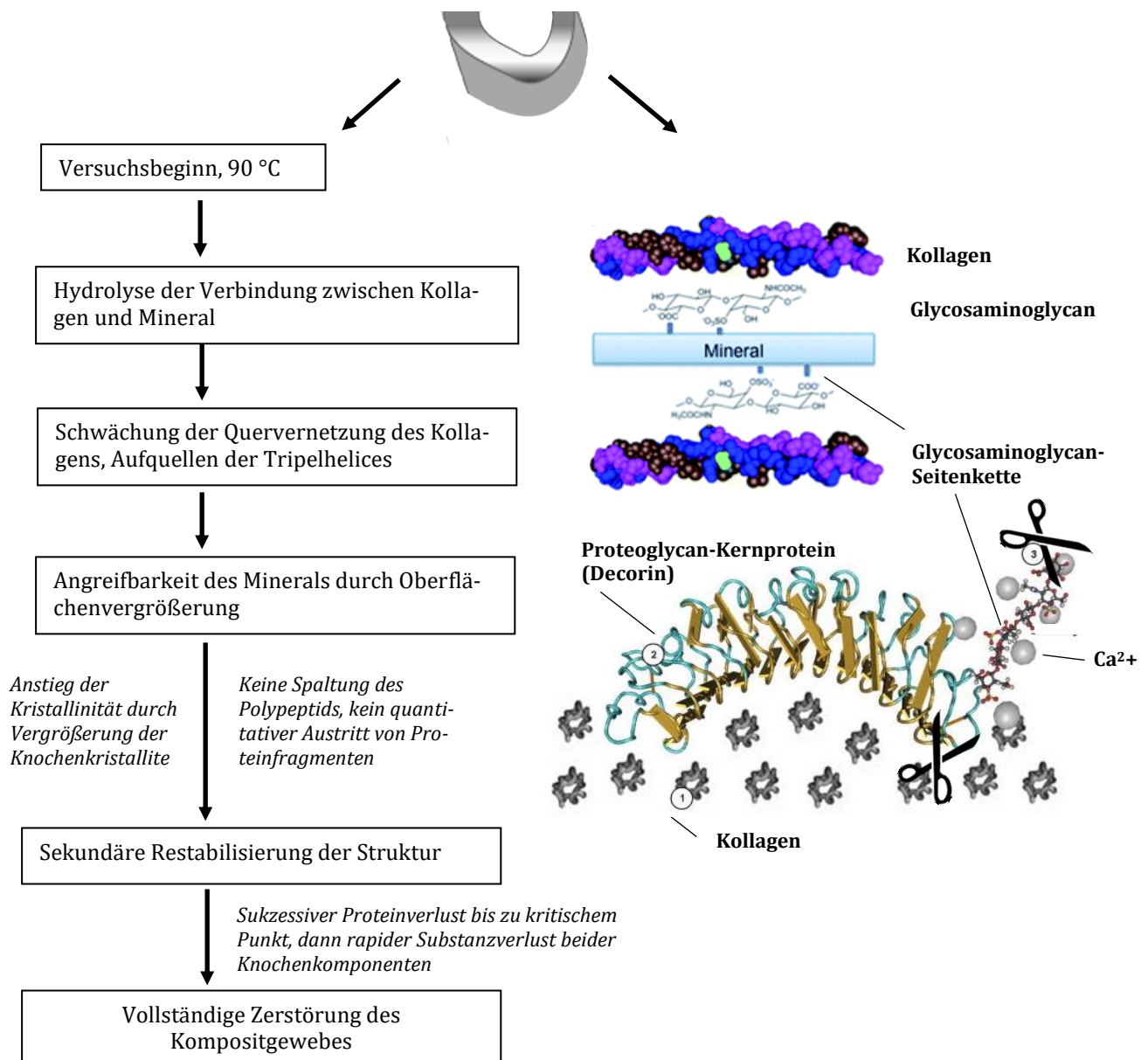


Abb. 5.8 Schematische Übersicht über den Ablauf der hydrolytischen Degradation der Knochenproben. Abbildungen verändert nach Bertassoni et al. (2012) und Zhong und Chu (2012).

Es war auffällig, dass die Proben der drei Spenderfemora ein unterschiedliches Diageneseverhalten bzw. eine unterschiedlich stark ausgeprägte Resistenz gegen den hydrolytischen Abbau aufwiesen. Da die drei Individuen aus verschiedenen Altersklassen stammten, wurde vermutet, dass die altersbedingten physiologischen Unterschiede, welche sich im Glykationsgrad des Kollagens ausdrücken, für diese Beobachtung verantwortlich sein könnten. Ein höherer Glykationsgrad vermittelt dabei eine höhere Resistenz gegen thermisch-hydrolytische Degradation, was sich insgesamt in einem stabileren Verlauf aller über den Inkubationszeitraum gemessenen organischen und anorganischen Parameter widerspiegelte.

Das Verhältnis der stabilen Isotope erwies sich insgesamt als überaus resistent gegen den hydrolytischen Abbau des Gewebes. Besonders die Isotopensignatur des Kohlenstoffs aus dem Kollagen

blieb bis zum Beginn der Phase der rapiden Zerstörung des Gewebes mit massivem Materialverlust gegen Ende des Versuchs unbeeinflusst und konstant.

Die dagegen etwas stärkeren Schwankungen der Stickstoffisotopie zu Beginn des Experiments wurden den bereits weiter oben diskutierten Aminosäureverlusten während der Kollagenextraktion zugeschrieben. Die sensiblere Reaktion der Stickstoffisotopie auf die hydrolytische Schädigung des Gewebes ist auf den geringeren Stickstoffgehalt des Kollagens (~ 15 %) im Vergleich zu dessen Kohlenstoffbilanz (~ 43 %) zurückzuführen, welche eine höhere Puffereigenschaft aufweist.

Auch die Kohlenstoffisotopie des strukturellen Carbonats blieb bis zur rapiden Zerstörung der Mikrostruktur und dem massiven Verlust der Organik sehr stabil, trotz offensichtlicher Beeinflussung der Kristallinität und Schwankungen des Carbonatgehalts der Nanokristalle. Vermutlich verblieben die aus dem Knochen gelösten Ionen dank der fehlenden Wasserzirkulation in der Hydrathülle der Kristallite, wobei keine statistische signifikante Korrelation mit der Position der ν_2 -Carbonatbande der FTIR-Spektren und den $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$ -Werten nachgewiesen werden konnte. Eventuell aus dem Umgebungswasser eingebaute Carbonationen bewirkten aufgrund des nahezu neutralen Isotopenverhältnisses keine Verschiebung der Kohlenstoffisotopie (5.1.4.2). Die isotopische Zusammensetzung des Carbonatsauerstoffs dagegen zeigte sich von Beginn des Experiments an als überaus instabil, was einen Austausch mit Sauerstoffionen aus dem Umgebungswasser suggeriert (vgl. Munro et al. 2007).

Daher sind Analysen des Carbonat-Sauerstoffs aus Proben, welche offenkundig hydrolytischen Bedingungen ausgesetzt waren, aufgrund der leichten Veränderbarkeit der Werte eher abzulehnen.

5.2.2 Mikrobieller Knochenabbau

Es war schwierig, anhand der Ergebnisse aus der experimentellen Beimpfung der Knochenproben ein allgemeines Modell zur mikrobiell induzierten Diagenese des Gewebes zu erstellen. Zurückzuführen ist dies auf die offenkundig uneinheitlichen Abbaumechanismen und Strategien zur Ressourcennutzung der einzelnen Mikroorganismen. Weiterhin stellt sich bei biogener Aktivität im Gegensatz zu rein chemischen Mechanismen die zusätzliche Problematik dar, dass neben gezieltem Abbau knocheneigener Substanz eine nicht einschätzbare Menge diverser organischer Komponenten in den Knochen eindringen und im Zuge der Probenaufbereitung mitunter nicht vollständig entfernt werden kann. Noch schwieriger wird die Interpretation, wenn Abbaureaktionen und Infiltration organischer Kontamination simultan stattfinden. Dies zeigte sich unter anderem darin, dass hinsichtlich der organischen Parameter nur der prozentuale Kohlenstoff- und Stickstoffgehalt einen sichtbaren Zusammenhang zeigten, während eine unmittelbare Verbindung zu Schwankungen in der Aminosäurebilanz nicht hergestellt werden konnte. Es wurde jedoch insge-

samt sowohl aus der Aminosäureanalyse als auch der zumeist simultanen Abnahme des prozentualen Kohlenstoff- und Stickstoffgehalts deutlich, dass der Abbau des Kollagens eher quantitativ als selektiv ablief. Die Auswertung der Ergebnisse wurde allerdings weiterhin dadurch erschwert, dass die Anzahl der untersuchten Proben zu gering war, um valide statistische Analysen durchführen zu können.

Die histologisch detektierten Bohrkanäle, welche besonders in den mit *Streptomyces griseus* beimpften Knochen deutlich ausgeprägt waren, bewiesen, dass die Mikroorganismen das Gewebe befallen hatten und auch abseits der physiologischen Hohlräume tiefer in den kompakten Knochen vorgedrungen waren. Jedoch konnte kein Zusammenhang zwischen dem Grad der mikrostrukturellen Zerstörung und Veränderungen der organischen oder anorganischen Matrix hergestellt werden. Dies ist nicht überraschend, da die histologischen Index-Kategorien 4 und 5, welche zusammen einen mikrostrukturellen Konservierungsgrad von 85 % darstellen, in der Beurteilung des biomolekularen Erhalts teilweise zusammengefasst werden (siehe Hoke et al. 2011). Die Studie ergab jedoch auch eine relativ geringe Teststärke für das Merkmal der histologischen Integrität zur Vorhersage der Kollagenerhaltung des Knochens.

Weiterhin war auffällig, dass an der mineralischen Matrix beobachtete Veränderungen wie die Zunahme der Kristallinität und die Absenkung des C/P-Werts in der Regel nicht mit Modifikationen der organischen Knochenfraktion in Verbindung gebracht werden konnten. Die unter Punkt 5.1.4.3 diskutierten Zusammenhänge zwischen der Kristallinität, der Verschiebung der ν_2 -Carbonylschwingung sowie dem Auftreten der akzessorischen OH-Bande bei 3600 cm^{-1} sprechen für eine Beeinflussung der Hydrathülle der Knochenkristallite und der Entwässerung der Nanokristalle, welche die räumliche Vergrößerung durch den Verlust von Carbonationen begleitete.

Da die Bakterien von außen auf den Knochen aufgebracht wurden ist es denkbar, dass durch die lokale Ansäuerung infolge mikrobieller Aktivität die auf den Kollagenfibrillen aufliegenden Mineralplättchen sehr schnell auf die Milieuänderung reagierten und sich die Kristallite vergrößerten. Damit schlossen sich die physiologischen Lücken zwischen den Kollagenfibrillen, wodurch das Kollagen vermutlich sogar zunächst vor weiterem Angriff geschützt wurde. Im Zuge der Deproteinerung des Knochens im Rahmen der Probenaufbereitung dürften die Rekristallisationsprodukte anschließend größtenteils entfernt worden sein (Nielsen-Marsh und Hedges 2000b), was auch die Veränderung der $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$ - und insbesondere der $\text{d}^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ -Werte erklären kann, während die Isotopensignatur des Kollagens keinen gravierenden Änderungen unterworfen war.

Die vergleichsweise stärksten Schwankungen zeigten die $\text{d}^{13}\text{C}_{\text{koll}}$ -Werte der Proben von Spender 3, dem ältesten der drei Individuen. Hier wurde vermutet, dass der Glykationsgrad des Kollagens, welcher hinsichtlich der rein hydrolytischen Degradation eine höhere Stabilität des Moleküls vermitteln dürfte (5.2.1), einem bevorzugten Abbau durch Mikroorganismen Vorschub leisten könnte, da der erhöhte Zuckergehalt eine attraktive Nahrungsquelle für Bakterien darstellt.

Es ist zu erwarten, dass bei längeren Inkubationszeiten und einer fortschreitenden Schädigung der Nanokristalle auch das Kollagen stärker angegriffen wird und ein ähnliches Muster des Proteinverlusts zu beobachten sein dürfte wie bei den hydrolytisch degradierten Proben (5.2.1).

5.2.3 Besonderheiten der Frühdiagenese *in situ*

Es zeigte sich, dass die aus den experimentellen Degradationsversuchen gewonnenen Erkenntnisse wertvolle Hinweise auf die unter natürlichen Bedingungen ablaufende frühe Diagenese phase von Knochen lieferten. Dabei unterschieden sich die Vorgänge in den bodengelagerten und nicht bestatteten Proben prinzipiell lediglich in der Geschwindigkeit der ablaufenden Prozesse.

Die Bodenbedingungen erwiesen sich in der vorliegenden Studie als unerheblich für die frühe diagenetische Beeinflussung des Knochens. Särge, mit dem Sarg assoziierte Textilien und Bekleidungsgegenstände bleiben auf modernen Friedhöfen teilweise sehr lange erhalten und schirmen den Körper in der Frühphase der Diagenese effektiv vor den direkten Einflüssen des Bestattungsmilieus ab. Dies zeigte sich unter anderem darin, dass die Durchdringung der Knochen mit Huminstoffen nur eine untergeordnete Rolle spielte und erst mit der Dekomposition der Särge durch die im Holz enthaltenen Tannine deutlicher wurde.

Zwar ergab sich ein statistischer Zusammenhang zwischen der Bodenfarbe und dem mikrostrukturellen Erhaltungszustand des Knochens, jedoch ist nicht klar, ob der Zusammenhang als absolut angesehen werden kann. Es handelte sich dabei um einen recht dunklen Boden, was für einen hohen Organik-Anteil spricht und zu der Annahme passen würde, dass eventuell in den Sarg eingesickertes, mit Huminstoffen aus dem Boden angereichertes Wasser eine antiseptische Wirkung gehabt haben könnte (1.3.3.1). Jedoch waren bei noch dunkleren Böden durchaus bakterielle Bohrkanäle in den Knochen zu beobachten. Daher wird eher von einer sekundären Beeinflussung der mikrobiellen Aktivität ausgegangen.

Sowohl bei den Proben des Westfriedhofs als auch den unbestatteten Rehkadavern wurde deutlich, dass die zeitliche Entwicklung bzw. der Ablauf der Fäulnis einen entscheidenden Einfluss auf die bakterielle Besiedlung des Knochens gehabt haben muss, was die Bedeutung der körpereigenen Kommensalenflora hinsichtlich der Weichgewebszersetzung und auch der Invasion des Knochens unterstrich. Den Bodenbakterien scheint dabei zumindest in der Phase der Frühdiagenese keine größere Bedeutung zuzukommen.

Bei der Analyse der organischen Knochenmatrix fiel auf, dass die Proben mit den kürzesten Liegezeiten (< 20 Jahre) die stärksten Modifikationen des Proteingehalts und dessen Zusammensetzung aufwiesen. Diese Beobachtung wurde mit den Erkenntnissen aus der experimentellen hydrolytischen Degradation der frischen Knochen in Relation gesetzt, wo durch die Spaltung der Peptidoglycan- und Glycosaminoglycan-Schnittstelle zwischen Kollagen und den Mineralkristalliten eine Vorschädigung des Kollagens durch hydrolytische Schwächung stattfand und die Knochenkristallite eine leichte Vergrößerung zeigten. Katalysiert wurde dies durch die Einwirkung der sauren Dekompositionsprodukte des Weichgewebes, welche auf den Knochen einwirken konnten. Der lange Erhalt flüssigkeitsdichter Särge und/oder mit der Bestattung assoziierten Textilien verstärkte diesen Effekt (siehe auch Übersichtszeichnung 5.9). Nach dem Abschluss der Weichgewebsdekomposition und dem Wegfall der sauren Abbauprodukte schien sich die Kompositstruktur erneut zu stabilisieren, da die Proben mit längeren Liegezeiten als 20 Jahren eine bessere Kon-

servierung von Kollagen und eine geringere Kristallinität zeigten. Dasselbe galt für die unbestateten Rehknochen, bei welchen sich das Gewebe ebenfalls nach abgeschlossener Weichgewebsdekomposition stabilisierte.

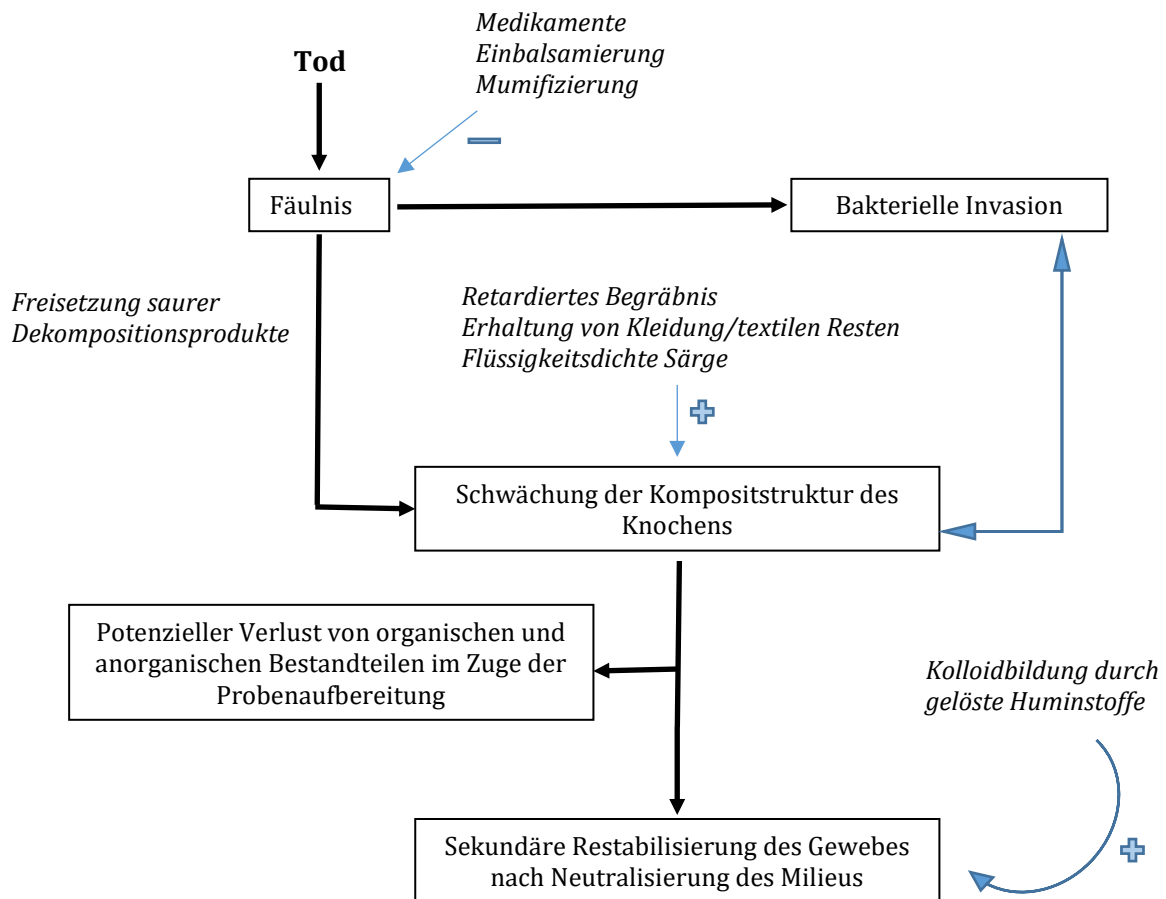


Abb. 5.9 Schematische Übersicht über die diagenetischen Vorgänge in Knochen während der frühen Phase der Dekomposition.

Es ist anzunehmen, dass im weiteren Verlauf der Dekomposition mit zunehmender Beteiligung der mikrobiellen Komponente eine Mischung der Ergebnisse der beiden experimentellen Degradationsmodelle zum Tragen kommt, woraufhin sich die Nachvollziehbarkeit der Abbauvorgänge insbesondere des Kollagens verkompliziert, da mitunter für Mikroorganismen indikative Aminosäuren sekundär aus dem Knochen entfernt werden können.

Im Fall der archäologischen Knochen bestand jedoch eine statistisch hoch signifikante Korrelation zwischen der Liegezeit und dem prozentualen Kollagenanteil des Knochens, nicht aber mit der Qualität des Kollagens. Dies spricht eher für einen gleichförmigen, unselektiven Verlust der Bestandteile des Polypeptids und gegen einen zielgerichteten Abbau bestimmter Aminosäuren, wie es auch durch die Ergebnisse des Inokulationsexperiments deutlich wurde. Problematisch hinsichtlich der Aminosäureanalyse sowie im Hinblick auf die Bewertung der prozentualen Anteile

von Kohlenstoff und Stickstoff des Knochenkollagens der frühdiagenetisch beeinflussten Proben zeigte sich die Persistenz von Weichgewebsresten wie nicht vollständig vergangener vaskulärer Strukturen innerhalb des Knochens, auch wenn aufgrund der vergleichsweise geringen Probenanzahl kein allgemeiner statistischer Trend beobachtet werden konnte.

Es wurde ebenso vermutet, dass im Zuge der Weichgewebsdekomposition entstehende Amine (Putrescin, Cadaverin) bei einer Durchdringung des Knochens auch zu Verschiebungen der detektierten Aminosäurekonzentrationen aus der extrahierten Organik führten. Ebenfalls als problematisch erwies sich das Auftreten von Fettwachs innerhalb der physiologischen Hohlräume der Compacta, welches sich nicht durch die Entfettung mit Diethylether entfernen ließ und teilweise auch nach der Deproteinierung des Knochenpulvers noch nachweisbar war. Hierdurch kam es durch den Überschuss an Kohlenstoff zu einer deutlichen Erhöhung des C/P-Verhältnisses, welche bei einer unreflektierten Analyse der Daten als Veränderung des Knochenminerals fehlinterpretiert werden könnte.

Insgesamt zeigte sich das C/P-Verhältnis der frühdiagenetisch beeinflussten Proben in einem relativ eng gefassten Rahmen zwischen 0,70 und 0,85. Von dieser Spanne nach unten abweichende Werte, welche einen relativen Phosphatüberschuss anzeigen, konnten mit einem pathologischen Erscheinungsbild der Knochenmikrostruktur in Verbindung gebracht werden, welches auf eine metabolische Knochenkrankheit, wahrscheinlich unter Beteiligung der Niere, hinwies.

Als ebenfalls pathologisch und nicht diagenetisch bedingt wurde zudem die Erhöhung der Carnosin-Konzentration des Kollagens eingestuft, welche ausschließlich in Kombination mit mikrostrukturellen Haltelinien bzw. starker Knochenresorption auftrat. Als Ursache hierfür wurde eine Diabetes-Erkrankung vermutet (vgl. 5.1.3.1). In Analogie zu den Erkenntnissen aus der experimentellen bakteriellen Degradation, wo ein erhöhter Glykationsgrad des Kollagens die Attraktivität als Ressource für mikrobiellen Abbau steigerte, wurde dies auch *in situ* vermutet. Jedoch konnten in diesem Zusammenhang keine Korrelationen zwischen den entsprechenden Altersklassen, der histologischen Integrität oder Veränderungen des Kollagens festgestellt werden.

Die mineralischen Parameter erwiesen sich generell als recht konstant. Jedoch zeigten sich trotz der geringen Schwankungen der Werte gewisse Zusammenhänge. Mit zunehmender Kristallinität verschob sich die ν_2 -Carbonatbande der FTIR-Spektren in höhere Wellenzahlbereiche. Dies war bereits tendenziell bei den experimentell hydrolytisch degradierten beobachtet worden, wobei sich dieser simultane Anstieg dort erst ab dem 20. Inkubationstag deutlich abzeichnete.

Korrelationen mit dem Alter, der Liegezeit oder anderen intrinsischen und extrinsischen Faktoren wurden nicht erkannt. Es wird daher vielmehr auch in diesem Fall angenommen, dass die Verschiebung der $\nu_2\text{CO}_3^{2-}$ -Schwingung eventuell mit einer Zunahme von labilem Carbonat korrespondiert, was wiederum zu einer Vergrößerung der Nanokristalle führt. Der tatsächliche Verlust von Carbonationen schien jedoch nur marginal zu sein, da das C/P-Verhältnis keinen direkten Zusammenhang zeigte.

Bei den archäologischen Proben, also in fortgeschrittenen Diagenesephasen, wurde keine zwingende Korrelation zwischen einer Kristallinitätszunahme und Verschiebungen der ν_2 -Carbonatbande beobachtet, jedoch war hier der Anteil labilen Carbonats generell höher, da die $\nu_2\text{CO}_3^{2-}$ -Schwingung mehrheitlich in Bereichen über $871,5\text{ cm}^{-1}$ angesiedelt war. Eine Erklärung hierfür ist nicht leicht zu finden. Bei einem zunehmenden Verlust von Carbonat aus den Knochenkristalliten, was den Anteil labilen Carbonats erhöhen müsste, würden sich diese vergrößern und die Kristallinität müsste stetig zunehmen (1.2.1.2). Auch der C/P-Wert konnte in den meisten Proben keinen Aufschluss über einen etwaigen Verlust von Carbonat geben. Eine mögliche Erklärung könnte sein, dass die äußere Hydrathülle der Nanokristalle unter bestimmten Liegebedingungen, welche keine Wasserfluktuation zulassen, mit Carbonationen aus dem Umgebungsmilieu sowie knocheneigenem Material gesättigt ist und ein ständiger Austausch zwischen dem labilen und dem gebundenen Carbonat stattfinden kann (siehe auch Rey et al. 2007).

Der ebenfalls mit hohen Wellenzahlenbereichen der $\nu_2\text{CO}_3^{2-}$ -Schwingung assoziierte OH-Peak in manchen archäologischen Proben, welcher als indikativ für den Austausch zwischen in den Kristall eingelagertem Wasser und Carbonat-Ionen angenommen wurde (5.1.4.3), dürfte einen profunderen Effekt auf die Kristallite und massivere Austauschreaktionen anzeigen.

Hinsichtlich der Verhältnisse der stabilen Isotope des Kollagens und Carbonats in der frühdiagenetischen Phase wurden die strukturellen Veränderungen nicht so eingeschätzt, als dass sie zu einer deutlichen Verschiebung der Werte geführt hätten. Bei auffälligen prozentualen Stickstoff-, Kohlenstoff- sowie C/P-Werten ist zum Ausschluss organischer Verunreinigungen und zur Identifizierung eventuell vorliegender renaler Osteopathien die Anfertigung histologischer Präparate dringend zu empfehlen.

5.3 Implikationen für die Qualitätskontrolle von Isotopenanalysen

Das Hauptziel der vorliegenden Studie war es, im Zuge der systematischen Untersuchung der im Knochen ablaufenden diagenetischen Vorgänge durch den Vergleich mit frischen, unveränderten Proben jene Parameter zu identifizieren, welche am zuverlässigsten etwaige Verschiebungen der *in vivo* erworbenen Isotopensignatur der organischen und anorganischen Knochenkomponenten anzuzeigen vermochten. Das Augenmerk lag dabei insbesondere auf der Analyse der Prozesse während des initialen Dekompositionsprozesses und der Ausarbeitung eines Kriterienkatalogs für die Qualitätsanzeige der mineralischen Matrix, da bislang diesbezüglich in der archäometrischen Forschung kaum Sicherheiten bestehen.

Die praxisorientierte Eignung bestehender Qualitätskriterien (siehe 1.5) wurde dabei ebenso getestet wie neue Herangehensweisen, und bislang verwendete Grenzwerte wurden den neuen Er-

kenntnissen angepasst. Dabei erwiesen sich einige der etablierten Qualitätskriterien als eher ungeeignet, diagenetische Veränderungen der Isotopensignatur der organischen und anorganischen Knochenfraktion anzuzeigen.

5.3.1 Evaluation des Vorhersagewerts der untersuchten Marker für Verschiebungen der Isotopenverhältnisse von Kollagen und Mineral

Anhand der in den Kapiteln 4.4.1 und 4.4.2 im Hinblick auf die experimentell degradierten Proben eruierten Korrelationen wurde der Indikationswert der untersuchten Faktoren hinsichtlich der Verschiebung der Isotopenverhältnisse von C und N des Kollagens sowie C und O des Carbonats bzw. Phosphats analysiert.

Die Berechnungen folgten dabei den statistischen Qualitätsmarkern aus der klinischen Praxis, welche sich auf den Satz von Bayes beziehen (vgl. 3.10), und wurden mithilfe der interaktiven Plattform für biostatistische Kalkulationen durchgeführt (StatPages, www.statpages.org/ctab2x2.html). Metrische Variablen wurden dafür vor der Berechnung zunächst in ein binäres Skalenniveau umkodiert. Die hierfür notwendige Abschätzung von Grenzwerten folgte der grafischen Beurteilung der jeweiligen Boxplots.

5.3.1.1 Beurteilung der Qualitätsmarker für Verschiebungen von $\delta^{13}\text{C}$ und $\delta^{15}\text{N}$

Die statistische Effektivität der Parameter, für welche eine Korrelation mit Verschiebungen des $\delta^{13}\text{C}$ -Wertes aus dem Kollagen des Knochens festgestellt wurde (siehe 4.4.1) und die damit potenziell für die Vorhersage veränderter Kohlenstoff-Isotopenwerte verwendet werden können, ist in Tabelle 5.1 zusammengefasst.

Den höchsten positiven Vorhersagewert (PPV, positive predictive value), also den Prozentsatz jener Proben, welche durch das Merkmal korrekt als „verändert“ angezeigt wurden, besaß überraschenderweise der prozentuale Gewichtsanteil der anorganischen Knochenfraktion. 90 % der Proben, welche durch das Merkmal als „verändert“ erkannt wurden, zeigten tatsächlich verschobene $\delta^{13}\text{C}$ -Werte. Auch der negative Vorhersagewert (NPV, negative predictive value) war mit 93 % korrekt prognostizierter unveränderter Proben sehr hoch. Daraus resultierte eine insgesamt hohe Effizienz des Testmerkmals von 93 %. Dennoch wurden so 31 % der veränderten Proben mithilfe des Merkmals nicht als isotopisch verändert erkannt (falsch negativ), während 2 % irrtümlich als verschoben klassifiziert wurden (falsch positiv).

Die mit 18 % geringste Rate fälschlich als unverändert eingeordneter Proben wies das Merkmal der akzessorischen OH-Bande in den FTIR-Spektren auf, jedoch lag hier der positive Vorhersagewert lediglich bei 69 % (Anteil korrekt zugeordneter veränderter Proben). 94 % der isotopisch unveränderten Proben wurde so allerdings auch als nicht verschoben erkannt. Die Effizienz des Tests war mit 88 % recht hoch.

Tabelle 5.1 Übersicht über die Güte der Vorhersagewahrscheinlichkeit veränderter $\delta^{13}\text{C}$ -Werte durch die analysierten organischen Marker und mineralischen Indizes.

CI = Kristallinitätsindex, FWHM = Halbwertsbreite. PPV = positive predictive value, NPV = negative predictive value.

	Sensitivität	Spezifität	PPV	NPV	Prävalenz	Effizienz
Gew. Organik < 1 %	54 %	96 %	78 %	90 %	18 %	88 %
C (35 % – 52 %)	67 %	88 %	53 %	93 %	18 %	84 %
N (14 % – 17 %)	75 %	88 %	56 %	94 %	18 %	85 %
C/N (2,9 – 3,4)	50 %	89 %	50 %	89 %	18 %	86 %
CI > 2,8	27 %	97 %	75 %	82 %	23 %	75 %
Kristallgröße (25 nm – 38 nm)	55 %	95 %	75 %	88 %	23 %	85 %
OH-Bande FTIR	82 %	82 %	69 %	94 %	23 %	88 %
FWHM $\nu_1\text{PO}_4^{3-}$ Raman (15,5 – 19)	40 %	98 %	80 %	87 %	20 %	78 %
Gew. Anorganik (45 % – 65 %)	69 %	98 %	90 %	93 %	19 %	93 %

Die höchsten Raten falsch negativer Kategorisierungen zeigten die mineralischen Parameter Kristallinitätsindex (73 %) sowie Halbwertsbreite $\nu_1\text{PO}_4^{3-}$ (60 %), aber auch die organischen Marker wie das molare C/N-Verhältnis (50 %) und das prozentuale Gewicht der organischen Fraktion (46 %) ergaben hohe falsch negative Klassifizierungen. Eine etwas bessere Vorhersagequalität zeigte der Kohlenstoff- bzw. Stickstoffanteil des Kollagens, jedoch war auch hier die Rate falsch negativer Einordnungen recht hoch (33 % bzw. 25 %). Zudem lag der positive Vorhersagewert für die Anzeige diagenetisch veränderter $\delta^{13}\text{C}$ -Werte lediglich bei 53 % bzw. 56 %.

Hinsichtlich der Vorhersage postmortal modifizierter $\delta^{15}\text{N}$ -Werte war die Teststärke der untersuchten Merkmale insgesamt geringer als für das Verhältnis der stabilen Kohlenstoffisotope (siehe Tabelle 5.2). Trotz der sehr hohen Spezifität (korrekte Identifizierung isotopisch unveränderter Proben) einiger Parameter (Gew. % Organik, FWHM $\nu_1\text{PO}_4^{3-}$, Gew. % Anorganik), war die Sensitivität (korrekte Identifizierung isotopisch veränderter Proben) meist relativ gering und damit die Rate falsch negativ klassifizierter Proben hoch. Die höchste Sensitivität wies hier der prozentuale Kohlenstoffanteil auf, jedoch wurden durch dieses Merkmal dennoch 23 % der Proben mit verschobenem $\delta^{15}\text{N}$ -Wert als unverändert eingestuft. Die hohe Spezifität und der hohe positive Vorhersagewert von 87 % verliehen dem Test eine Effizienz von 88 %. Die zweithöchste Sensitivität zeigte das Auftreten der akzessorischen OH-Bande in den FTIR-Spektren, aber immerhin 37 % der Proben mit verändertem $\delta^{15}\text{N}$ -Wert wurden damit als valide eingestuft. Die Effizienz des Merkmals als Vorhersagemarker für veränderte Stickstoffisotopenwerte betrug 80 %.

5. DISKUSSION

Tabelle 5.2 Übersicht über die Güte der Vorhersagewahrscheinlichkeit veränderter $\delta^{15}\text{N}$ -Werte durch die analysierten organischen Marker und mineralischen Indizes.

CI = Kristallinitätsindex, FWHM = Halbwertsbreite. PPV = positive predictive value, NPV = negative predictive value.

	Sensitivität	Spezifität	PPV	NPV	Prävalenz	Effizienz
Gew. Organik < 1 %	45 %	100 %	100 %	81 %	30 %	83 %
C (35 % – 52 %)	77 %	96 %	87 %	93 %	29 %	88 %
N (14 % – 17 %)	58 %	89 %	69 %	84 %	29 %	80 %
C/N (2,9 – 3,4)	53 %	96 %	83 %	83 %	29 %	83 %
CI > 2,8	19 %	97 %	75 %	68 %	36 %	67 %
Kristallgröße (25 nm – 38 nm)	38 %	93 %	75 %	73 %	36 %	73 %
OH-Bande FTIR	63 %	90 %	77 %	81 %	36 %	80 %
FWHM $\nu_1\text{PO}_4^{3-}$ Raman (15,5 – 19)	31 %	100 %	100 %	76 %	32 %	78 %
Gew. Anorganik (45 % – 65 %)	50 %	100 %	100 %	82 %	31 %	85 %

Für die Anwendung in der archäometrischen Forschung wurde in der Beurteilung der Ergebnisse der Sensitivität ein höherer praktischer Wert beigemessen als der Spezifität, da das Erkennen postmortal isotopisch mutmaßlich veränderter Proben entscheidend ist, um eventuelle Fehlinterpretationen der Daten zu vermeiden. Dennoch sollte die Spezifität nicht zu niedrig sein, um nicht zu viele hinsichtlich ihrer *in vivo* erworbenen Isotopensignatur gut erhaltenen Proben fälschlicherweise für weitere Analysen auszusortieren.

Damit zeichnete sich ab, dass bei der Beurteilung modifizierter $\delta^{13}\text{C}$ - und $\delta^{15}\text{N}$ -Daten der prozentuale Anteil von Kohlenstoff und Stickstoff an der extrahierten Organik mit die höchsten Sensitivitätswerte erreichte. Jedoch wurden hierfür neu definierte Grenzwerte angelegt, um den physiologischen Schwankungen innerhalb der frischen, diagenetisch unveränderten Proben Rechnung zu tragen (siehe Tabelle 5.1 und 5.2).

So wurde eine ähnlich hohe Spezifität erzielt wie mit der Beurteilung der Proben anhand des molaren C/N-Verhältnisses (korrektes Erkennen unveränderter Isotopenwerte im Rahmen der gesetzten Grenzwerte), jedoch war hier die Sensitivität höher. So wurden immerhin nur etwa 30 % anstatt 50 % der Proben als fälschlicherweise isotopisch verändert eingeschätzt, welche für archäometrische Analysen anhand der Kriterien aussortiert würden.

Als für beide Isotopensysteme zusätzlich sinnvoll erscheinendes Kriterium für die Beurteilung der Integrität der Isotopenverhältnisse erwies sich das Auftreten der akzessorischen OH-Bande im FTIR-Spektrum. So zeigte sich nach den statistischen Berechnungen ein vielversprechendes Potenzial als Qualitätsmarker. 82 % der Proben mit dem entsprechenden FTIR-Signal wiesen eine Verschiebung des $\delta^{13}\text{C}$ -Werts auf, jedoch nur 63 % veränderte $\delta^{15}\text{N}$ -Werte. Die Rate der bei fehlendem OH-Peak nicht erkannten isotopisch veränderten Proben betrug hinsichtlich des Kohlenstoff-Isotopenverhältnisses 18 % und in Bezug auf das Stickstoff-Isotopenverhältnis 10 %. Da keines der Merkmale eine absolute Vorhersagegarantie für eine diagenetische Modifikation der *in vivo* erworbenen Isotopenzusammensetzung des Gewebes leisten kann, wird eine Kombination der in Tabelle 5.3 aufgeführten Kriterien angeraten, um die größtmögliche Sicherheit für die Identifikation potenziell isotopisch veränderter Proben zu erreichen.

Tabelle 5.3 Empfohlene Kriterien für die Beurteilung der isotopischen Integrität von Kohlenstoff und Stickstoff aus dem Kollagen diagenetisch beeinflusster Proben.

Kriterium	Grenzwert	Restrisiko (falsch neg.)
% C	35-52 %	12 % $\delta^{13}\text{C}$; 4 % $\delta^{15}\text{N}$
% N	14-17 %	12 % $\delta^{13}\text{C}$; 11 % $\delta^{15}\text{N}$
OH-Bande FTIR	Vorhanden/ nicht vorhanden	18 % $\delta^{13}\text{C}$; 10 % $\delta^{15}\text{N}$

Das in der archäometrischen Praxis am häufigsten genutzte Kriterium für die Identifizierung mutmaßlich diagenetisch veränderter Isotopenwerte des Kollagens, das molare C/N-Verhältnis, zeigte in den allgemein gebräuchlichen Grenzwerten von 2,9 bis 3,4 ähnliche Schwächen in der Identifizierung hinsichtlich der Isotopenwerte des Kollagens diagenetisch veränderter

Proben wie das Merkmal des prozentualen Organik-Gewichtsanteils. Das Hauptproblem hierbei war, dass bei simultanen Schwankungen des prozentualen Kohlenstoff- und Stickstoffgehalts, wie beispielsweise in den experimentell bakteriell degradierten Proben beobachtet, das molare C/N-Verhältnis nur geringe Standardabweichungen aufwies und so eine gute Konservierung des Kollagens vorspiegelte. Die mitunter hohe Spezifität des Merkmals von 89 % ($\delta^{13}\text{C}$) bzw. 96 % ($\delta^{15}\text{N}$) deutete an, dass jene Proben, welche innerhalb des Wertebereichs von 2,9-3,4 lagen, mit einem Unsicherheitsfaktor von 4-11 % als isotopisch tatsächlich unverändert angesehen werden können. Jedoch wurde so auch nur die Hälfte der sicher als hinsichtlich des *in vivo* erworbenen Isotopenverhältnisses verändert erkannten Proben korrekt eingeordnet, was bedeutet, dass anhand des Kriteriums 50 % diagenetisch unveränderter Proben mit konserviertem Isotopensignal aussortiert würden. Dies unterstützt die bereits mehrfach geäußerte Kritik, dass die Grenzwerte für die Identifizierung eines diagenetisch unveränderten Isotopenverhältnisses zu eng gewählt sind (1.5.1, Coltrain et al. 2004, Grupe et al. 2003, Harbeck und Grupe 2009). Jedoch führte eine Erweiterung des Grenzwerts wiederum zu einer sinkenden Spezifität, was die Qualität des Kriteriums als validen Indikator für die Identifizierung veränderter Kohlenstoff- und Stickstoffisotopenwerte als kritisch erscheinen lässt.

Die Feststellung der Kollagenqualität anhand der chromatographischen Aminosäureanalyse konnte nicht als solides Kriterium für die Vorhersagbarkeit isotopischer Modifikationen herangezogen werden. Sowohl bei den experimentell bakteriell degradierten Proben als auch in den unbestatteten Rehknochen wurden keine sich strukturell gravierend auswirkenden Modifikationen der Aminosäurekonzentrationen festgestellt und die Kollagenqualität wurde somit anhand der aufgestellten Kriterien (vgl. 4.1.3.3) als „sehr gut“ bewertet, obwohl einige Proben postmortale Verschiebungen der *in vivo* erworbenen Isotopensignatur zeigten. Eine solide statistische Auswertung in Bezug auf die frischen Referenzknochen war jedoch nicht gegeben, da für die Bewertung schließlich lediglich die experimentell hydrolytisch degradierten Proben zur Verfügung standen, da nur hier signifikante Schwankungen der Aminosäurekonzentrationen feststellbar waren.

Der stärkste Zusammenhang mit Veränderungen der *in vivo* erworbenen Isotopenverhältnisse von Kohlenstoff und Stickstoff bestand mit den Aminosäuren Histidin und Leucin. Jedoch machen diese Aminosäuren nur einen geringen Anteil am Gesamtprotein aus (Hare 1980), und deren Konzentrationsveränderung sollte sich theoretisch nicht fundamental auf merkliche isotopische Modifikationen des Proteins auswirken, solange die mengenmäßig häufigeren Aminosäuren (Glycin, Prolin, Hydroxyprolin, 1.2.1.1) noch in physiologischem Maß vertreten sind. Die in Kapitel 4.1.3.3 für die Einteilung der Kollagenqualität definierten Grenzwerte, welche sich an den dominanten Aminosäuren orientierten, zeigten jedoch keinen klar definierbaren Zusammengang mit Verschiebungen der $\delta^{13}\text{C}$ - und $\delta^{15}\text{N}$ -Werte, weshalb die chromatographisch bestimmte Kollagenqualität nicht als valider Indikator für diagenetische Veränderungen der Isotopenwerte des Kollagens herangezogen werden kann.

5.3.1.2 Beurteilung der Qualitätsmarker für Verschiebungen von $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$ und $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$

Metcalf et al. (2009) fassten in ihrer Studie zusammen, dass bislang noch keines der als Diageneseindikator getesteten Kriterien, wie die vergleichende Analyse des Verhältnisses der stabilen Sauerstoffisotope von Carbonat und Phosphat, die Kristallinität und das C/P-Verhältnis, Röntgendiffraktogramme oder auch histologische Untersuchungen, Veränderungen des *in vivo* erworbenen Sauerstoffisotopenverhältnisses der mineralischen Knochenfraktion anzeigen kann. Obwohl der Fokus der Diageneseforschung hauptsächlich auf dem Sauerstoff liegt, gilt dies ebenso für die Kohlenstoffisotopie des strukturellen Carbonats.

Die Definition valider Qualitätsmarker für die Integrität der Isotopenverhältnisse aus der mineralischen Knochenfraktion analog zum Vorgehen für die Kohlenstoff- und Stickstoffisotopie des Kollagens war nicht so einfach realisierbar. Die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte aus dem strukturellen Carbonat zeigten sich sowohl bei den experimentell hydrolytisch degradierten Proben als auch bei den unbestatteten Rehknochen relativ konstant, lediglich die Knochen des bakteriellen Degradationsversuchs wiesen stärkere Schwankungen auf. Aufgrund der geringen Anzahl an Proben konnten damit keine statistischen Analysen zur Identifizierung von Einflussfaktoren auf die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte durchgeführt werden.

Für jene Parameter, welche nach 4.4.2 einen statistischen Zusammenhang mit Abweichungen des $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ -Wertes zeigten, wurde die Indikationsqualität für verschobene Werte berechnet und in Tabelle 5.4 zusammengefasst. Die Merkmale wiesen insgesamt mit niedrigen positiven Vorhersagewerten (alle < 35 %) nur schlechte Indikatorqualitäten auf. Zwar zeigten etliche Marker mit jeweils hohen Sensitivitäten veränderte $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ -Werte korrekt an, jedoch waren die Spezifitäten (richtige Einordnung isotopisch unveränderter Proben) jeweils nur gering. Der Anteil falsch positiv klassifizierter Proben war damit sehr hoch.

Tabelle 5.4 Übersicht über die Güte der Vorhersagewahrscheinlichkeit veränderter $\delta^{18}\text{O}$ -Werte durch die analysierten organischen Marker und mineralischen Indizes. CI = Kristallinitätsindex, FWHM = Halbwertsbreite. PPV = positive predictive value, NPV = negative predictive value. Da die Prävalenz jeweils sehr hoch war, besitzen PPV und NPV nur wenig Aussagekraft, weshalb die Beurteilung der Wahrscheinlichkeitsverhältnisse bevorzugt wurde.

	Sensitivität	Spezifität	PPV	NPV	Präval.	Effizienz	LR ⁺	LR ⁻
Gew. Organik < 1 %	100 %	42 %	21 %	100 %	64 %	50 %	1,73	0,00
C (35 % – 52 %)	93 %	46 %	34 %	96 %	63 %	57 %	1,73	0,15
N (14 % – 17 %)	81 %	43 %	32 %	88 %	63 %	52 %	1,42	0,44
C/N (2,9 – 3,4)	100 %	45 %	29 %	100 %	63 %	55 %		
CI > 2,8	100 %	34 %	13 %	100 %	69 %	40 %	1,52	0,00
Kristallgröße (25 nm – 38 nm)	88 %	35 %	23 %	93 %	69 %	44 %	1,35	0,36
OH-Bande FTIR	77 %	34 %	32 %	79 %	69 %	47 %	1,17	0,67
FWHM $\nu_1\text{-PO}_4^{3-}$	100 %	31 %	14 %	100 %	72 %	38 %	1,45	0,00
Raman (15,5 – 19)								
Gew. Anorganik (45 % – 65 %)	100 %	44 %	24 %	100 %	63 %	52 %	1,77	0,00

Da die errechnete Prävalenz zudem extrem hoch und damit unrealistisch war, wurde die Beurteilung des Wahrscheinlichkeitsverhältnisses (likelihood ratio, LR⁺ und LR⁻) vorgezogen. Ein Wert von 1 bedeutet dabei, dass die Wahrscheinlichkeit für ein positives (LR⁺) bzw. negatives (LR⁻) Testergebnis bei veränderten und unveränderten Isotopenwerten gleich hoch und der Test damit ungeeignet ist. Insgesamt waren die Wahrscheinlichkeitsverhältnisse aller getesteten Marker zu nahe an 1, als dass eine gute Indikatoreignung postuliert werden konnte.

Die als gebräuchlichstes Merkmal für mineralische Veränderungen verwendete Kristallinität der Probe zeigte keinen direkt erkennbaren Zusammenhang mit diagenetischen Modifikationen der isotopischen Integrität des Knochenminerals. Zwar wurden in den Degradationsversuchen durchaus Schwankungen der Kristallinität des Minerals beobachtet, jedoch fanden diese in der Regel nur in einem kleinen Rahmen und innerhalb des in der Literatur definierten Grenzwerts für physiologisches Knochenmineral zwischen 2,5 und 3,9 statt (vgl. 1.5.2). Alle frischen Knochen sowie alle Proben des frühdiagenetisch beeinflussten Kollektivs unterschritten zudem den unteren Grenzwert von 2,5, die Obergrenze wurde von keiner Probe überschritten. Aufgrund der Datenlage schien es sinnvoller, den Grenzwertbereich „unauffälligen“ Minerals zumindest zu modifizieren und zwischen 2,2 und 2,8 festzulegen. Dennoch erwies sich das Merkmal als alleiniges Kriterium für eine Aussage über den Veränderungsgrad der Mineralkristallite als wenig valide, zumindest eine Kombination mit dem C/P-Verhältnis sollte angestrebt werden (siehe weiter unten).

Laut Shemesh (1990) sollte die Kristallinität einer Probe in direktem Zusammenhang mit den $\delta^{18}\text{O}$ -Werten stehen, wobei niedrige Kristallinitätswerte vom *in vivo* Zustand nicht abweichende Sauerstoffisotopenwerte anzeigen sollten. In zahlreichen anderen Studien jedoch konnte, wie auch in der vorliegenden Arbeit, keine Korrelation zwischen der Kristallinität und veränderten Isotopenwerten hergestellt werden. Erhöhte Werte sprechen offenbar sogar teilweise für einen besseren Erhalt des biogenen Isotopensignals, da die Kristallite nach der Umwandlung in eine

thermodynamisch stabilere Konformation weniger reaktiv sind (Lee-Thorp und Sponheimer 2003, Pucéat et al. 2004, Trueman et al. 2008). Durch die Einwanderung von Fremdcarbonat kann der Kristallinitätsindex ferner auf einem niedrigen Niveau stabilisiert werden und so unter Umständen einen guten Mineralerhalt vorspiegeln (Morris und Mandair 2011, Pucéat et al. 2004). Weder Brock et al. (2010) noch Weiner und Bar-Yosef (1990) konnten außerdem einen Zusammenhang zwischen der Kristallinität und dem Kollagengehalt des Knochens feststellen, jedoch bestätigte sich dies im vorliegenden Fall nur für die archäologischen Proben. Insbesondere die experimentell hydrolytisch degradierten Proben zeigten einen sehr starken Zusammenhang zwischen dem Verlust der organischen Matrix und einem Anstieg der Kristallinität. Pucéat et al. (2004) folgerten, dass merkliche Auflösungs- und Rekristallisationsprozesse stattfinden können, ohne dass das Verhältnis der stabilen Sauerstoffisotope signifikant verändert wird, da keine simple Beziehung zwischen der Kristallchemie und der Kristallinität von Apatitmineralen besteht.

Ein weiterer Grund für die kritische Beurteilung der Qualität der Kristallinität als Marker für veränderte Isotopenwerte ist methodischer Natur. Surovell und Stiner (2001) konnten eindrucksvoll nachweisen, dass die Probenpräparation, insbesondere die Intensität des Mahlens der Knochen vor der Messung, zu erheblichen Schwankungen in den Kristallinitätswerten ein und derselben Probe führt. Bei zu großen Kristallen wird die IR-Strahlung extrem gestreut, was zu einer Veränderung des Spektrums und schwankenden Kristallinitätswerten führt (Stuart 2004).

Einen deutlicheren Zusammenhang mit diagenetischen Modifikationen der Isotopenwerte des Knochenminerals zeigte das C/P-Verhältnis, da dieses Veränderungen in den absoluten Konzentrationen von Carbonat- und Phosphationen recht sensibel abzubilden schien. Jedoch wurde auch hier aufgrund der aus den Ergebnissen gewonnenen Erkenntnisse der in der Literatur angegebene Grenzwert, welcher auf den Werten von Reptilien, Fischen und eines Meeress  ugers basiert (Pucéat et al. 2004, 1.5.2), für die humanen Proben der vorliegenden Arbeit angepasst und auf Normwerte zwischen C/P = 0,65-0,85 festgelegt (siehe Tabelle 5.5). Dies macht jedoch deutlich, dass der Wert wiederum stark spezie- bzw. gattungsabh  ngig sein dürfte. Ebenso wurde im Zuge der Probenanalyse beobachtet, dass das C/P-Verhältnis bei renalen Osteopathien und eventuell auch anderen systemischen Krankheiten deutlich erniedrigt war, ohne dass dies auf diagenetische Prozesse zurückgeführt werden konnte. Die Aufbereitung der Proben im Zuge der massenspektrometrischen Analyse (siehe 3.7) konnte in

Tabelle 5.5 Empfohlene Kriterien für die Beurteilung der isotopischen Integrität von Kohlenstoff und Sauerstoff aus dem Mineral diagenetisch beeinflusster Proben. Besonders bei Überschreitung der Grenzwerte sollte von einer diagenetischen Modifikation insbesondere des Sauerstoffisotopenverhältnisses ausgegangen werden.

Kriterium	Grenzwert
C/P-Verhältnis	0,65-0,85
Position $\nu_2\text{CO}_3^{2-}$	869-872 cm^{-1}

den meisten Fällen kontaminierende Mineralphasen entfernen, welche für eine Erhöhung des C/P-Verhältnisses verantwortlich waren. Daher sollte die Beurteilung der Proben anhand des C/P-Verhältnisses stets an aufbereitetem Knochenpulver durchgeführt werden.

Den stärksten Zusammenhang mineralischer Parameter mit nachweislich veränderten $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ -Werten zeigte die Position der ν_2 -Carbonatbande, welche im Zuge der diagenetischen Abreicherung des schweren Sauerstoffisotops in höhere Wellenzahlenbereiche verschoben wurde (Tabelle 5.5). Metcalfe et al. (2009) fanden in ihrer Studie einen starken Zusammenhang zwischen erniedrigten $\delta^{18}\text{O}$ -Werten und eine im dekonvolierten FTIR-Spektrum (Brangule und Gross 2015) auftretende Schulter bei 866 cm^{-1} im Bereich der $\nu_2\text{CO}_3^{2-}$ -Schwingung, welche vermutlich im unbearbeiteten Spektrum für die Verschiebung der Bande in höhere Wellenzahlbereiche verantwortlich gemacht werden kann. Zurückzuführen ist diese Schulter auf die Präsenz einer besonderen Carbonat-Umgebung, die vermutlich auf amorphem oder mit F^- assoziiertem Carbonat basiert (Nielsen-Marsh und Hedges 2000b). Die erhöhte Konzentration amorphen Carbonats könnte ein Hinweis auf die fortgeschrittene Schädigung der Nanokristalle sein und einen verstärkten Austausch zwischen strukturell gebundenen Carbonationen und denen des Umgebungsmilieus anzeigen. Hierbei ist von Modifikationen der *in vivo* erworbenen Sauerstoffisotopensignatur auszugehen. Es ist anzunehmen, dass bei mikrobieller Beteiligung auch das Phosphat des Knochens hiervon betroffen ist (vgl. Zazzo et al. 2004a).

Keinen greifbaren Zusammenhang mit veränderten $\delta^{18}\text{O}$ -Werten wies das Auftreten der akzessorischen OH-Bande des FTIR-Spektrums auf, obwohl eine starke Korrelation mit diagenetischen Modifikationen der Isotopenzusammensetzung des Kollagens festgestellt wurde. Auch die mittels Raman-Spektroskopie ermittelten Merkmale eigneten sich nicht für die Anzeige der isotopischen Integrität des Gewebes.

5.3.2 Extrapolation der Ergebnisse auf bodengelagerte, *in situ* degradierte Proben

Die Problematik bei der Extrapolation der Ergebnisse aus den experimentellen Degradationsversuchen bestand darin, dass die bodengelagerten, unter natürlichen Bedingungen degradierten Proben weiteren Einflüssen ausgesetzt waren, welche experimentell nicht modelliert werden konnten. Daher wurde zunächst versucht, anhand der unter 5.3.1 getesteten Kriterien abweichende Isotopenwerte zu identifizieren und diese mit den unter 4.1.3.2 und 4.1.4.2 als im Vergleich zum Gesamtkollektiv auffällig erscheinenden Proben abzugleichen.

Für die Verhältnisse der stabilen Isotope von Kohlenstoff und Stickstoff aus dem Kollagen wurden das Auftreten der akzessorischen OH-Bande sowie der prozentuale Kohlenstoff- und Stickstoffgehalt des Kollagens bewertet (C: 35 – 52 %, N: 14 – 17 %). Damit wurde eine Probe des Westfriedhofs als potenziell hinsichtlich ihres $\delta^{13}\text{C}$ -Wertes verändert identifiziert (WF 3), wobei der Grenzwert für den prozentualen Stickstoffgehalt nur leicht überschritten wurde, während bei den archäologischen Knochen 23 von 35 als vom *in vivo* Zustand abweichend eingeschätzt wurden (siehe Tabelle 5.6). Bestimmte Fundorte waren dabei besonders stark vertreten (Altdorf, Burgwein-

ting, Regensburg-Minoritenweg, Freiham, Maisach-Gernlinden und Bruchsal). Ein Zusammenhang mit dem histologischen Erhaltungsgrad konnte nicht hergestellt werden, da alle Proben mehr oder weniger stark von bakteriellem Befall betroffen waren.

Der Vergleich mit der grafischen Auswertung der $\delta^{13}\text{C}$ - und $\delta^{15}\text{N}$ -Werte (siehe 4.1.3.2, Seite 116) zeigte, dass lediglich fünf dieser Proben eine auffällige Abweichung von den übrigen Knochen aufwiesen. Die Probe WF 3 hob sich in der grafischen Darstellung nicht ab.

Lediglich sieben der archäologischen Knochen waren für mehr als einen Marker für veränderte Isotopenwerte des Kollagens positiv (Tabelle 5.6), weshalb die Wahrscheinlichkeit dort höher einzuschätzen ist, dass tatsächlich eine diagenetische Verschiebung des *in vivo* erworbenen Iso-

Tabelle 5.6 Übersicht über die *in situ* degradierten Proben, welche Abweichungen in den prozentualen Kohlenstoff- und Stickstoffanteilen des Kollagens sowie einen akzessorischen OH-Peak in den FTIR-Spektren zeigten.

Probe	Abw. C 35- 52 %	Abw. N 14- 17 %	OH-Peak FTIR	Grafisch auffällig
WF 3		x		
Alt 1			x	$\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$
Alt 64		x	x	
Alt 93		x		$\delta^{15}\text{N}$
Alt 220			x	$\delta^{13}\text{C}$
MP 54			x	
KE 161			x	
KE 192			x	
BW 3		x		
BW 9	x	x		
BW 10		x		
BW 12		x		
BW 14	x	x		
MWL 55		x		
MWL 137			x	$\delta^{13}\text{C}$
FH 3419	x	x		
FH 3520	x	x		$\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$
MG 1087	x	x		
MG 1340		x		
BrA 3			x	
BrA 7			x	
BrA 10		x		
BrA 11		x		
BrA 12		x	x	

topenverhältnisses von Kohlenstoff und Stickstoff aus dem Kollagen des Knochens stattgefunden hat.

Hinsichtlich der Verhältnisse der stabilen Isotope der anorganischen Matrix konnten die Erkenntnisse aus den experimentellen Degradationsversuchen im Zuge statistischer Evaluationen nur begrenzt herangezogen werden, da die statistischen Tests keine validen Marker für veränderte Isotopenwerte lieferten. Vielmehr wurden jene Kriterien für die Beurteilung abweichender $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$ - bzw. $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ -Werte bewertet, für welche sich im Laufe der Auswertung der stärkste Zusammenhang mit Veränderungen der mineralischen Matrix zeigte. Dabei handelte es sich um die absolute Position der ν_2 -Carbonatbande im

FTIR-Spektrum sowie das ebenso aus den FTIR-Spektren errechnete C/P-Verhältnis.

Als Grenzwerte für diagenetisch eher unbeeinflusste Proben wurden die Position der Carbonatbande zwischen 869 cm^{-1} und 872 cm^{-1} sowie ein C/P-Verhältnis zwischen 0,65 und 0,85 festgelegt. Nach diesen Kriterien wichen zunächst eine Probe des Westfriedhofs sowie 19 archäologische Proben in einem oder beiden Merkmalen von den Grenzwerten ab (siehe Tabelle 5.7).

Da jedoch als Vorbereitung für die Isotopenanalyse das Knochenpulver deproteiniert und mit Ca-Acetat-Essigsäurepuffer behandelt wurde, wurden die entsprechenden Werte für die auffälligen

Tabelle 5.7 Übersicht über die *in situ* degradierten Proben, welche Abweichungen im Carbonat/Phosphat-Verhältnis des Minerals sowie Verschiebungen der ν_2 -Carbonatbande in den FTIR-Spektren zeigten.

Probe	Abw. C/P 0,65-0,85	Abw. C/P deprot.	Pos. $\nu_2\text{CO}_3^{2-}$ 869-872	Grafisch auffällig
WF 43	x	x		
Alt 1	x	n.b.		
Alt 93	x	n.b.		$\delta^{18}\text{O}$
KE 161	x	x		
KE 174	x	x		
KE 192	x	x		
MP 68	x	x		$\delta^{18}\text{O}$
BW 9			x	
BW 14	x	x	x	
MWL 137	x	x		$\delta^{13}\text{C}$
MWL 193			x	$\delta^{18}\text{O}$
MWL 251	x	x	x	
MG 1340			x	
FH 3520			x	
BrA 3	x		x	
BrA 7	x		x	
BrA 10	x	x		
BrA 11	x			$\delta^{18}\text{O}$
BrA 12	x		x	$\delta^{13}\text{C}$

Proben auch im behandelten Zustand betrachtet. Dies veränderte die Werte jedoch nur bei 4 Proben des Fundkomplexes Bruchsal, welche ursprünglich ein deutlich erhöhtes C/P-Verhältnis aufgewiesen hatten, so, dass diese nach der Behandlung des Knochenpulvers innerhalb der Spanne von 0,65-0,85 lagen. Im Fall von BrA 10 konnte der Wert nicht abgesenkt werden (Tabelle 5.7), was auf eine im Knochen persistierende mineralische Verunreinigung hinweist.

Die anfangs stark erhöhten C/P-Werte von WF 43 und MWL 251 zeigten wiederum nach der Be-

handlung ein deutlich zu niedriges Verhältnis, wobei dieses Phänomen nicht unmittelbar erklärbar ist. Zwar wies WF 43 ausgedehnte Fettwachseinschlüsse innerhalb der Mikrostruktur auf, jedoch müsste der C/P-Wert nach der Probenaufbereitung im Normbereich liegen und nicht darunter fallen. Metabolische Probleme, welche für eine Erniedrigung des C/P-Verhältnisses verantwortlich sein könnten, waren histologisch nicht ersichtlich (4.1.2.2). Ein degradativer Effekt kann daher nicht ausgeschlossen werden.

Die ursprünglich zu niedrigen Werte der restlichen Proben blieben unverändert niedrig. Sechs der 19 als potenziell isotopisch verändert eingestuften Knochen wiesen auch bei der grafischen Auswertung auffällige Abweichungen bezüglich ihrer $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$ - und/oder $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ -Werte auf, wobei die Probe BrA 11 nach der Behandlung des Knochens und der offenkundigen Entfernung der kristallinen Kontamination (4.1.2.2, 4.1.4.3) in keinem der anderen Kriterien mehr vom Normbereich abwich.

Insbesondere jene Proben, welche in mehr als einem Marker für potenzielle postmortale Verschiebungen der Isotopenzusammensetzung des Knochencarbonats positiv getestet wurden (BW 14, MWL 251), sind mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit verändert und sollten nicht für interpretatorische Auswertungen verwendet werden

Aus der hinsichtlich des C/P-Verhältnisses veränderten Probe WF 43 wurde kein Phosphat extrahiert. Die restlichen Proben des Westfriedhofs zeigten sich in ihren mineralischen Merkmalen sehr homogen. Zwei der acht analysierten Proben (WF 4, WF 10) wiesen eine Blauverschiebung der Hauptphosphatbande des Raman-Spektrums in den Bereich um 968 cm^{-1} auf, fünf Proben (WF

10, WF 22, WF 24, WF 27, WF 28) zeigten eine leichte Verbreiterung des Peaks auf über 17,0, wobei dies noch im als normale Variation eingeschätzten Bereich von 15,5 bis 19,0 lag.

Auf Basis der Korrelationsanalysen konnten Regressionsmodelle für den Einfluss der einzelnen Variablen auf die Verschiebung der Isotopenverhältnisse des Kollagens und strukturellen Carbonats bei den *in situ* degradierten Proben berechnet werden. Da die abhängige Variable kein metrisches Skalenniveau besaß, wurde ein logistisches Modell verwendet. Die Ergebnisse der Berechnung sind in Tabelle 5.8 dargestellt. Hinsichtlich eines verschobenen Isotopenverhältnisses von Kohlenstoff und Stickstoff aus dem Kollagen zeigte nur der histologische Erhaltungszustand einen signifikanten Einfluss, während Abweichungen in den Isotopenverhältnissen des strukturellen Carbonats lediglich mit der Altersklasse und der Liegezeit in Verbindung zu stehen schienen. Die Modellgüte war dabei jeweils als gut zu deuten (Nagelkerkes $R^2 > 0,5$).

Die mittels der so getesteten potenziellen Einflussfaktoren auf die Veränderung der als Qualitätsmarker für die isotopische Integrität von Kollagen (%C, %N, OH-Bande FTIR) und Mineral (C/P, Position $\nu_2\text{CO}_3^{2-}$) definierten Kriterien ergaben nur wenige identifizierbare Komponenten. Ziel war es, den Einfluss der in den Korrelationsanalysen mit den Qualitätsindikatoren in Verbindung stehenden Parametern zu überprüfen, um den dominantesten Faktor herauszufiltern. So wurden anhand des Rechenmodells die Kollagen-Qualitätskriterien lediglich durch den histologischen Index statistisch signifikant beeinflusst, die Liegezeit beispielsweise wirkte sich nicht auf die Merkmale aus.

Tabelle 5.8 Zusammenfassung der logistischen Regressionsanalyse. Berechnet wurde der Einfluss der Faktoren, welche eine Korrelation mit den als Indikator für Verschiebungen der Isotopenverhältnisse errechneten Markern zeigten (% C, % N, OH-Bande FTIR, C/P, Position $\nu_2\text{-CO}_3^{2-}$). 2LL = 2-facher Log-Likelihood-Wert.

	Regressoren	Modellgüte 2LL, Nagelkerkes R^2	Signifikanz Wald-Statistik (χ^2)
Abweichung $\delta^{13}\text{C}_{\text{koll}}$	• OHI	0,825	OHI, p = 0,002
	• Huminstoffeinwanderung		
	• Gew. % Kollagen		
	• Kristallformation/Rekrist.		
	• Liegezeit		
	• Altersklasse		
Abweichung $\delta^{15}\text{N}$	• OHI	0,623	OHI, p = 0,003
	• Huminstoffeinwanderung		
	• Gew. % Kollagen		
	• Kristallformation/Rekrist.		
	• Liegezeit		
	• Altersklasse		
Abweichung $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$ und $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$	• Kristallinität	0,529	Altersklasse, p = 0,010 Liegezeit, p = 0,021
	• Kristallgröße		
	• Kristallformation/Rekrist.		
	• Altersklasse		
	• Liegezeit		

Dies legt eine Kreuzbeziehung zwischen dem Ausmaß bakterieller Zerstörung, dem Auftreten der OH-Bande in den FTIR-Spektren sowie Verschiebungen des prozentualen Kohlenstoff- und Stickstoffgehalts nahe, was insgesamt mutmaßlich zu einer Modifikation der *in vivo* erworbenen Isotopensignatur des Kollagens führt. Jedoch ist zu erwarten, dass neben der mikrostrukturellen Zerstörung durch Mikroorganismen noch weitere Faktoren eine Rolle spielen, welche durch das Regressionsmodell nicht erfasst wurden, wie beispielsweise fehlende Bodenparameter bei den archäologischen Proben.

Die Qualitätskriterien zur Anzeige der isotopischen Integrität des Knochenminerals zeigten sich, basierend auf die Ergebnisse der Einzelkorrelationen der Merkmale, lediglich durch die Liegezeit sowie die Altersklasse der Individuen beeinflusst. Die mineralischen Parameter innerhalb der frühdiagenetisch veränderten Proben waren konstant, während die archäologischen Proben stärkere Modifikationen aufwiesen. Der Zusammenhang mit der Altersklasse dürfte auf die ungleiche Altersverteilung zwischen den frühdiagenetisch beeinflussten, wenig modifizierten Proben, welche von der Altersklasse *Senilis* dominiert waren, und den archäologischen Knochen, hauptsächlich durch *Adultas* und *Maturitas* repräsentiert, zurückzuführen sein. Daher spielten auch hier weitere, nicht näher definierbare Einflussfaktoren eine Rolle, welche in der Berechnung des Regressionsmodells fehlten. Es bleibt daher rechnerisch unklar, welche extrinsischen Bedingungen genau neben der Liegezeit letztendlich zu Veränderungen des C/P-Verhältnisses und zu Verschiebung der ν_2 -Carbonatbande des FTIR-Spektrums und damit zu potenziellen Veränderungen insbesondere der biogenen Sauerstoff-Isotopensignatur des Knochenminerals beitragen.

Hinsichtlich der bodengelagerten Proben, welche in einem oder besonders in mehreren Kriterien von den vorgegebenen Grenzwerten abweichen, muss potenziell von diagenetisch bedingten Modifikationen ausgegangen werden. Der Unsicherheitsfaktor eines gewissen Prozentsatzes als dennoch fälschlich positiv oder negativ eingeschätzter Proben kann durch die Anwendung der vorgeschlagenen Qualitätskriterien zwar minimiert, aber nicht vollständig ausgeräumt werden. Ebenso ist das Ausmaß der Verschiebungen der Isotopenverhältnisse auch bei korrekter Ansprache nicht einschätzbar. Die Ergebnisse suggerieren jedoch, dass Modifikationen im Rahmen einer ganzen Trophiestufe ($\sim 3\text{‰}$) eher seltener auftreten.

Dennoch sollten die Daten der nach den anhand von Tabelle 5.6 und 5.7 auffälligen Proben auf jeden Fall kritisch bewertet bzw. bei Abweichungen in mehr als einem Marker von weiteren Analysen ausgeklammert werden, da hier die Wahrscheinlichkeit zu groß ist, dass die diagenetischen Veränderungen das *in vivo* erworbene Isotopensignal von Kollagen bzw. Carbonat überlagern und zu Fehlinterpretationen führen könnten.

5.4 Offene Fragen und Ausblick

Die Untersuchung der Stichprobenkollektive auf diagenetische Veränderungen der organischen und anorganischen Knochenmatrix ergab eine Reihe von interessanten Zusammenhängen, für deren Bestätigung bzw. Klärung weitere Grundlagenforschung im Rahmen eines Nachfolgeprojekts erfolgen sollte.

Es zeichnete sich ab, dass der mit dem Alter und bei *Diabetes mellitus* zunehmende **Glykationsgrad des Knochenkollagens** einen entscheidenden Einfluss auf das diagenetische Schicksal des Gewebes haben könnte. Während sich die Vernetzung des Kollagens durch Zuckermoleküle bei hydrolytischen Abbauprozessen wahrscheinlich stabilisierend auswirkt und eine hohe Resistenz gegen Strukturschädigungen vermittelt, scheint sich bei der Beteiligung von Mikroorganismen an der Diagenese ein erhöhter Glykationsgrad eher beschleunigend auf den Abbau von Kollagen auszuwirken, da der gebundene Zucker eine attraktive Energiequelle für Bakterien darstellen könnte. Um zu überprüfen, ob dieser Zusammenhang tatsächlich signifikante Auswirkungen auf die Stabilität und damit die Erhaltungschancen des Kollagens hat, sollte ein größeres Probenkollektiv frischer Spenderknochen hinsichtlich der Hydrolyseresistenz des Knochenkollagens untersucht werden. Dafür müsste eine größere Kohorte adulter Individuen mit den Knochen von Spendern der Altersklasse *Senilis* sowie mit nachweislich an Diabetes Typ I oder II erkrankten adulten Individuen verglichen werden.

Auf diese Weise könnte ebenso überprüft werden, ob eine **erhöhte Konzentration der Aminosäure Carnosin** tatsächlich indikativ für eine Diabeteserkrankung ist und dies somit auch zuverlässig für archäologische Funde bestätigen kann.

Ebenso könnte hierdurch eine **fundierte Vergleichsdatenbasis** für die für humanes Gewebe physiologische Spannbreite bestimmter Indizes der organischen und anorganischen Knochenfraktion geschaffen werden, insbesondere hinsichtlich des prozentualen Kohlenstoff- und Stickstoffgehalts des Kollagens, der Kristallinität des Knochenminerals, des C/P-Verhältnisses sowie der Position der $\nu_2\text{CO}_3^{2-}$ -Bande in den FTIR-Spektren.

Es konnte im Zuge der vorliegenden Arbeit nicht geklärt werden, weshalb ein einigen der Proben eine deutliche **Verschiebung der ν_1 -Hauptphosphatbande** in den Raman-Spektren von 960 cm^{-1} auf $> 965\text{ cm}^{-1}$ auftrat, was die Probenkollektive klar in zwei Gruppe trennte. Korrelationsanalysen mit anderen diagenetischen Parametern sowie intrinsischen und extrinsischen Faktoren blieben ergebnislos, und auch eine durchgeführte Elementanalyse zeigte keine Auffälligkeiten. Der Ursache für die Verschiebung der Phosphatbande sollte durch weiterführende Analysen auf den Grund gegangen werden. Hierfür müssten die betroffenen Proben mittels Rastermessung (Mapping) nachgemessen werden, um nicht nur eventuell lokal auftretende Phänomene zu erfassen, sondern den Knochenquerschnitt globaler beurteilen zu können. Kombiniert werde sollte dies zudem mit einer ebenfalls gerasterten Mikrosondenmessung (EMP), um Schwankungen in der Elementkonzentration über den Querschnitt feststellen zu können, was für eine Verschiebung des

Raman-Hauptphosphatpeaks verantwortlich sein könnte. Denkbar wäre auch eine kombinierte Untersuchung mittels ToF-SIMS⁷², da sich so ebenfalls Unterschiede in der Elementverteilung über den Knochenquerschnitt darstellen lassen.

Das als Indikator für potenzielle Veränderungen der *in vivo* erworbenen Isotopenverhältnisse des Knochenskollagens gewertete **Auftreten einer akzessorischen OH-Bande in den FTIR-Spektren** im Wellenzahlenbereich um 3600 cm^{-1} sollte unbedingt Ziel weiterführender Untersuchungen sein. So kann durch die Analyse nach der Dekonvolution der Spektren bzw. der rechnerischen Kurvenanpassung der Bereich des Wassersignals gezielter untersucht werden. Auf diese Weise werden die unter der Bande liegenden Peaks sichtbar und können so Aufschluss über die Entwicklung der OH-Bande geben. Es wäre zu klären, in welchem Zusammenhang die Reduktion der Wasserbande mit der Degradation des Kollagens steht und ob der Wasserverlust des Knochens auf in die Nanokristalle inkorporierte Wassermoleküle an der Channel-Site oder auf eine Dehydrierung des Kollagens zurückzuführen ist.

Die **Verschiebung der $\nu_2\text{CO}_3^{2-}$ -Bande der FTIR-Spektren**, welche mit dem Anteil labilen Carbonats in der Umgebung der Kristalle in Verbindung steht, wurde als möglicher Indikator für veränderte $\delta^{18}\text{O}$ -Werte des Knochencarbonats identifiziert. Hier sollte ebenso der Bereich der Carbonatschwingung mittels Dekonvolution bzw. Kurvenanpassung näher analysiert werden, da die Anzahl bzw. Intensität der unter der Bande liegenden Peaks die Verschiebung der Bande maßgeblich beeinflussen. Auf diese Weise könnte die Detektion diagenetischer Veränderungen der Isotopenwerte des Carbonats eventuell erheblich verfeinert werden.

Ein weiterer Punkt, der im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht geklärt werden konnte, ist die **Beeinflussung des Sauerstoffisotopenverhältnisses des Knochenphosphats** bei nicht rein hydrolytisch degradierten Proben. Während die $\delta^{18}\text{O}_{\text{phos}}$ -Werte bei hydrolytischem Abbau sehr lange stabil bleiben, sind bei biogener Dekomposition stärkere Veränderungen anzunehmen. Besonders bei den archäologischen Proben, welche hinsichtlich des $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ -Wertes als potenziell verändert eingestuft wurden, sollte der Phosphatsauerstoff überprüft sowie Carbonat- und Phosphatwerte verglichen werden. In diesem Zusammenhang gilt es insbesondere zu untersuchen, wie sich ein Schimmelbefall des Knochens in der frühen Diagenese phase auf die Isotopie des Gewebes auswirkt, wenn sich die taphonomischen Bedingungen im Diageneseverlauf verändern und die mykotische Kontamination (beispielsweise durch zunehmende Austrocknung) zurückgedrängt wird. Dieser Aspekt ist insbesondere bei nicht sachgemäßer Lagerung von Knochen nach der Ausgrabung entscheidend.

⁷² Time-of-Flight Secondary Ion Mass Spectrometry

6. Zusammenfassung

Die vorgestellte Studie zur Diagenese von Knochengewebe basierte auf zwei hauptsächlichen Säulen. Der erste Schritt bestand aus der Untersuchung des biomolekularen, mineralischen und teilweise mikrostrukturellen Erhaltungszustands experimentell degradierter frischer menschlicher Spenderknochen. Dabei wurden 36 Proben einem rein hydrolytischen Angriff ausgesetzt, 12 Proben wurden intentionell mit Bakterien beimpft. Die Ergebnisse aus den experimentell degradierten Proben wurden den drei unbeimpften Kontrollen der bakteriellen Degradation sowie den drei frischen, diagenetisch unbeeinflussten Referenzproben gegenübergestellt, wodurch postmortale Veränderung an der organischen und anorganischen Knochenmatrix sowie der Isotopenzusammensetzung des Gewebes nachvollzogen werden konnten. Bei hydrolytischen Abbauprozessen war die Degradation der Organik des Knochens linear mit Veränderungen der mineralischen Matrix verknüpft, unter der Beteiligung von Mikroorganismen waren die Zusammenhänge komplexer.

Es konnte weiterhin gezeigt werden, dass Mikroorganismen unter experimentellen Bedingungen auch bei anaeroben Verhältnissen mikrostrukturelle Bohrkanäle erzeugen und Veränderungen der Isotopensignatur des Knochens hervorrufen können.

Nach der statistischen Auswertung der Ergebnisse aus den Degradationsversuchen konnten die effizientesten Kriterien für die Anzeige von Veränderungen des Gewebes, welche eine vom *in vivo* Wert verschobene Isotopensignatur des Gewebes suggerieren, eingegrenzt werden. Dabei handelte es sich um den prozentualen Anteil von Kohlenstoff und Stickstoff des Knochenkollagens, wobei hier die in der Literatur bestehenden Grenzwerte angepasst wurden. In Kombination mit abweichenden Kohlenstoff- und Stickstoffkonzentrationen des Kollagens wurde zudem ein neues Qualitätskriterium für die Integritätsbestimmung des Kollagens erarbeitet. Hierbei handelte es sich um die Präsenz einer akzessorischen OH-Bande in den FTIR-Spektren im Wellenzahlbereich um 3600 cm⁻¹.

Das in der Praxis oft verwendete molare C/N-Verhältnis erwies sich als schlechter geeignet, postmortale Modifikationen der Isotopenzusammensetzung des Kollagens anzuzeigen.

Die Vorhersagbarkeit isotopischer Modifikationen des strukturellen Knochencarbonats stellte sich schwieriger dar. Jedoch konnten auch hier anhand der Untersuchungsergebnisse Empfehlungen ausgesprochen werden, nach welchen die Detektion wahrscheinlich veränderter Isotopenwerte möglich ist.

So zeigten Modifikationen des aus den FTIR-Spektren errechneten C/P-Verhältnisses sowie die Verschiebung der ν_2 -Carbonatbande in höhere Wellenzahlenbereiche einen starken Zusammenhang mit postmortalen Alterationen des $\delta^{18}\text{O}$ -Werts, wobei für den C/P-Wert angepasste Grenzwerte für den Normbereich erarbeitet wurden. Der $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$ -Wert erwies sich in den Degradationsexperimenten insgesamt als recht stabil.

Die zweite Säule des Projekts bestand aus der Untersuchung von unter natürlichen Bedingungen degradierten Proben, wobei 50 frühdiagenetisch beeinflusste Knochen mit kurzem, exakt bekanntem postmortalem Intervall die initiale Dekompositionsphase repräsentierten. Die Erkenntnisse aus der Analyse dieser Proben wurden anschließend mit 35 archäologischen Proben verglichen.

Die initiale Schwächung der Knochenstruktur, welche bereits im Zuge der experimentellen hydrolytischen Degradation nachgewiesen wurde, konnte auch bei den *in situ* degradierten Proben mit sehr kurzen Liegezeiten bestätigt werden. So konnte gezeigt werden, dass die während der Fäulnis des Weichgewebes auf den Knochen einwirkenden organischen Säuren einen starken negativen Einfluss auf die Stabilität des Gewebes hatten. Jedoch fand nach Beendigung der Fäulnis und dem Wegfall der aggressiv auf den Knochen wirkenden Noxen eine sekundäre Restabilisierung des Gewebes statt.

Generell wurde deutlich, dass der Verlauf der Fäulnis der entscheidende Faktor hinsichtlich der Richtungsentscheidung für das weitere diagenetische Schicksal des Knochens war, was sich auch im Ausmaß der bakteriellen Besiedlung des Gewebes widerspiegelte.

Insgesamt wurde der Erhaltungszustand der Proben bis zu Liegezeiten von 60 Jahren trotz erster Anzeichen mikrobiellen Befalls anhand der definierten Qualitätskriterien als gut eingeschätzt, insbesondere die mineralischen Parameter zeigten sich sehr stabil. In Bezug auf das spektrometrisch bestimmte C/P-Verhältnis von der festgelegten Norm abweichende Werte waren hier nicht auf diagenetische Prozesse zurückzuführen. Ein stark erniedrigtes C/P-Verhältnis konnte vielmehr mit pathologischen Geschehnissen in Verbindung gebracht werden, welche mit hoher Wahrscheinlichkeit auf renale Osteopathien zurückzuführen waren. Zur Abgrenzung diagenetischer Prozesse von pathologischen Geschehnissen bei auffälligen C/P-Werten ist die histologische Untersuchung der entsprechenden Proben auf Störungen des Knochenumbaus empfehlenswert.

7. Literatur

- Abelson, P.H.; Hoering, T.C. (1961): Carbon isotope fractionation in formation of amino acids by photosynthetic organisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 47: 623-632.
- Adlam, R.E.; Simmons, T. (2007): The effect of repeated physical disturbance on soft tissue decomposition – Are taphonomic studies an accurate reflection of decomposition? *Journal of Forensic Sciences* 52 (5): 1007-1014.
- Ahne, T., Ahne, S., Bohnert, M. (2011): *Rechtsmedizinische Aspekte der Notfallmedizin*. Thieme, Stuttgart.
- Ajie, H.O.; Hauschka, P.V.; Kaplan, I.R.; Sobel, H. (1991): Comparison of bone collagen and osteocalcin for determination of radiocarbon ages and paleodietary reconstruction. *Earth and Planetary Science Letters* 107 (2): 380-388.
- Alder, C.; Hoke, N.; Grupe, G. (2011): Die Dame mit den Goldohrringen - Eine Spurensuche mit anthropologischen und historischen Daten und ein außergewöhnlicher histologischer Befund. *Bulletin der Schweizerischen Gesellschaft für Anthropologie* 17 (1-2): 11-16.
- Ambrose, S.H. (1990): Preparation and characterization of bone and tooth collagen for isotopic analysis. *Journal of Archaeological Science* 17 (4): 431-451.
- Ambrose, S.H. (1991): Effects of diet, climate and physiology on nitrogen isotope abundances in terrestrial foodwebs. *Journal of Archaeological Science* 18 (3): 293-317.
- Ambrose, S.H. (1993): Isotopic analysis of palaeodiets: Methodical and interpretive considerations. In Sandford, M.K. (Hrsg.): *Investigation of Ancient Human Tissue: Chemical Analysis in Anthropology*. Gordon & Breach, New York: 59-130.
- Ambrose, S.H.; Norr, L. (1993): Experimental evidence for the relationship of the carbon isotope ratios of whole diet and dietary protein to those of bone collagen and carbonate. In Lambert, J.B.; Grupe, G. (Hrsg.): *Prehistoric human bone – Archaeology at the molecular level*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg: 1-37.
- Anderson, G.S.; VanLaerhoven, S.L. (1996): Initial Studies on Insect Succession on Carrion in Southwestern British Columbia. *Journal of Forensic Sciences* 41 (4): 617-625.
- Andrews, P.; Ersoy, A. (1990): Taphonomy of the Miocene bone accumulations at Paşalar, Turkey. *Journal of Human Evolution* 19 (4-5): 379-396.
- Andrews, P. (1995): Experiments in taphonomy. *Journal of Archaeological Science* 22 (2): 147-153.
- Ansorg, R.; Rochus, W. (1978): Untersuchungen zur antimikrobiellen Wirksamkeit von natürlichen und künstlichen Huminsäuren. *Arzneimittelforschung – Drug Research* 28: 2195-2198.

7. LITERATUR

- Arnaud, G.; Arnaud, S.; Ascenzi, A.; Bonucci, E.; Graziani, G. (1978): On the problem of the preservation of human bone in sea-water. *Journal of Human Evolution* 7 (5): 409-414.
- Ascenzi, A.; Silvestrini, G. (1984): Bone-boring marine micro-organisms: An experimental investigation. *Journal of Human Evolution* 13 (6): 531-536.
- Ascenzi, M.-G.; Ascenzi, A.; Benvenuti, A.; Burghammer, M.; Panzavolta, S.; Bigi, A. (2003): Structural differences between „dark” and „bright” isolated human osteonic lamellae. *Journal of Structural Biology* 141 (1): 22-23.
- Awonusi, A.; Morris, M.D.; Tecklenburg, M.M.J. (2007): Carbonate assignment and calibration in the Raman spectrum of apatite. *Calcified Tissue International* 81 (1): 46-52.
- Backhaus, K.; Erichson, B.; Plinke, W.; Weiber, R. (2006): *Multivariate Analysemethoden*. Springer, Berlin, Heidelberg, New York.
- Bada, J. L.; Schoeninger, M. J.; Schimmelmann, A. (1989): Isotopic fractionation during peptide bond hydrolysis. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 53 (12): 3337-3341.
- Badone, E.; Farquhar, R.M. (1982): Application of neutron activation analysis to the study of element concentration and exchange in fossils. *Journal of Radioanalytical Chemistry* 69 (1): 291-311.
- Baig, A.A.; Fox, J.L.; Young, R.A.; Wang, Z.; Hsu, J.; Higuchi, W.I.; Chhettry, A.; Zhuang, H.; Otsuka, M. (1999): Relationships among carbonated apatite solubility, crystallite size, and microstrain parameters. *Calcified Tissue International* 64 (5): 437-449.
- Bailey, A.J.; Paul, R.G.; Knott, L. (1998): Mechanisms of maturation and ageing of collagen. *Mechanisms of Ageing and Development* 106: 1-56.
- Balasse, M.; Bocherens, H.; Mariotti, A. (1999): Intra-bone variability of collagen and apatite isotopic composition used as evidence of a change of diet. *Journal of Archaeological Science* 26: 593-598.
- Balzer, A.; Gleixner, G.; Grupe, G.; Schmidt, H.-L.; Schramm, S.; Turban-Just, S. (1997): In vitro decomposition of bone collagen by soil bacteria: The implication for stable isotope analysis in archaeometry. *Archaeometry* 39: 415-4.
- Barker, M.J.; Clarke, J.B.; Martill, D.M. (1997): Mesozoic reptile bones as diagenetic windows. *Bulletin de la Société Géologique de France* 168: 535-545.
- Barthomeuf, C.; Pourrat, H.; Pourrat, A. (1992): Collagenolytic activity of a new semi-alkaline protease from *Aspergillus niger*. *Journal of Fermentation and Bioengineering* 73 (3): 233-236.
- Bass, W.M. (1997): Outdoor decomposition rates in Tennessee. In Haglund, W.D.; Sorg, M.H. (Hrsg.): *Forensic Taphonomy: The Postmortem Fate of Human Remains*. CRC Press Inc., Boca Raton, London, New York, Washington DC: 181-186.
- Bauer, J. M.; Wirth, R.; Volkert, D.; Werner, H.; Sieber, C. C. (2008): Malnutrition, Sarkopenie und Kachexie im Alter - Von der Pathophysiologie zur Therapie. *Deutsche Medizinische Wochenschrift* 133: 305-310.
- Behrensmeyer, A.K. (1978): Taphonomic and ecologic information from bone weathering. *Paleobiology* 4 (2): 150-162.
- Beevers, C.A.; McIntyre, D.B. (1946): The atomic structure of fluor-apatite and its relation to that of tooth and bone material. *Mineralogical Magazine* 27 (194): 254-257.
- Beg, A.M.; Jones, M.N.; Miller-Torbert, T.; Holt, R. (2002): Binding of *Streptococcus mutans* to extracellular matrix molecules and fibrinogen. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 298 (1): 75-79.

- Begum, M.; Hocking, A.D.; Miskelly, D. (2009): Inactivation of food spoilage fungi by ultra violet (UVC) irradiation. *International Journal of Food Microbiology* 129 (1): 74-77.
- Bell, L.S. (1990): Palaeopathology and diagenesis: an SEM evaluation of structural changes using back-scattered electron imaging. *Journal of Archaeological Science* 17 (1): 85-102.
- Bell, L.S.; Skinner, M.F.; Jones, S.J. (1996): The speed of post mortem change to the human skeleton and its taphonomic significance. *Forensic Science International* 82 (2): 129-140.
- Ben-David, M.; Flaherty, E.A. (2012): Stable isotopes in mammalian research: a beginner's guide. *Journal of Mammalogy* 93 (2): 312-328.
- Beniash, E. (2011): Biominerals-hierarchical nanocomposites: the example of bone. *WIREs Nanomedicine and Nanobiotechnology* 3 (1): 47-69.
- Berendsen, H. J. (1962): Nuclear magnetic resonance study of collagen hydration. *The Journal of Chemical Physics* 36 (12): 3297-3305.
- Bergslien, E.T.; Bush, M.; Bush, P.J. (2008): Identification of cremains using X-ray diffraction spectroscopy and a comparison to trace element analysis. *Forensic Science International* 175 (2-3): 218-226.
- Berna, F.; Matthews, A.; Weiner, S. (2004): Solubilities of bone mineral from archaeological sites: the recrystallization window. *Journal of Archaeological Science* 31 (7): 867-882.
- Berner, R.A. (1984): Sedimentary pyrite formation: An update. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 48 (4): 605-615.
- Berry, L.; Shuttleworth, C.A. (1988): Bacterial collagenase and collagen identification. *Connective Tissue Research* 17 (2): 153-158.
- Bertassoni, L. E.; Stankoska, K.; Swain, M. V. (2012): Insights into the structure and composition of the peritubular dentin organic matrix and the lamina limitans. *Micron* 43 (2): 229-236.
- Bethell, P.H.; Carver, M.O.H. (1987): Detection and enhancement of decayed inhumations at Sutton Hoo. In Boddington, A.; Garland, A.N.; Janaway, R.C. (Hrsg.): *Death, decay and reconstruction*. Manchester University Press, Manchester: 10-21.
- Bethell, P.H.; Smith, J.U. (1989): Trace-element analysis of an inhumation from Sutton Hoo, using inductively coupled plasma emission spectrometry: An evaluation of the technique applied to analysis of organic residues. *Journal of Archaeological Science* 16 (1): 47-55.
- Biltz, R.M.; Pellegrino, E.D. (1971): The hydroxyl content of calcified tissue mineral. *Calcified Tissue Research* 7 (1): 259-263.
- Blake, R.E.; O'Neil, J.R.; Garcia, G.A. (1998): Effects of microbial activity on the $\delta^{18}\text{O}$ of dissolved inorganic phosphate and textural features of synthetic apatites. *American Mineralogist* 83: 1516-1531.
- Blanchette, R.A. (2000): A review of microbial deterioration found in archaeological wood from different environments. *International Biodeterioration and Biodegradation* 46 (3): 189-204.
- Bocherens, H.; Koch, P.L.; Mariotti, A.; Geraads, D.; Jaeger, J.-J. (1996): Isotopic biogeochemistry (^{13}C , ^{18}O) of mammalian enamel from African pleistocene hominid sites. *Palaeos* 11 (4): 306-318.
- Bösl, C.; Grupe, G.; Peters, J. (2006): A Late Neolithic vertebrate food web based on stable isotope analyses. *International Journal of Osteoarchaeology* 16 (4): 296-315.
- Bol, R.; Pflieger, C. (2002): Stable isotope (^{13}C , ^{15}N and ^{34}S) analysis of the hair of modern humans and their domestic animals. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 16 (23): 2195-2200.
- Bond, M.D.; Van Wart, H.E. (1984): Characterization of the individual collagenases from *Clostridium histolyticum*. *Biochemistry* 23 (13): 3085-3091.

7. LITERATUR

- Bortz, J.; Lienert, G.A.; Boehnke, K. (1990): Verteilungsfreie Methoden in der Biostatistik. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo, Hong Kong, Barcelona.
- Boskey, A.; Pleshko Camacho, N. (2007): FT-IR imaging of native and tissue-engineered bone and cartilage. *Biomaterials* 28 (15): 2465-2478.
- Boskey, A. L.; Coleman, R. (2010): Aging and bone. *Journal of dental research* 89 (12): 1333-1348.
- Bourbou, C.; Fuller, B.T.; Garvie-Lok, S.J.; Richards, M.P. (2013): Nursing mothers and feeding bottles: reconstructing breastfeeding and weaning patterns in Greek Byzantine populations (6th-15th centuries AD) using carbon and nitrogen stable isotope ratios. *Journal of Archaeological Science* 40 (11): 3903-3913.
- Bowen, G. J.; Wassenaar, L. I.; Hobson, K. A. (2005): Global application of stable hydrogen and oxygen isotopes to wildlife forensics. *Oecologia* 143 (3): 337-348.
- Brandenburg, V.M.; Floege, J. (2008): Adynamic bone disease - bone and beyond. *Clinical Kidney Journal* 1 (3): 135-147.
- Brandenburg, V.M.; Floege, J. (2009): Adynome („low turnover“) renale Osteopathie. *Der Nephrologe* 4 (5): 388-394.
- Brangule, A.; Gross, K. A. (2015): Importance of FTIR spectra deconvolution for the analysis of amorphous calcium phosphates. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* 77 (1): doi:10.1088/1757-899X/77/1/012027.
- Braun, V.; Rehn, K. (1969): Chemical characterization, spatial distribution and function of a lipoprotein (murein-lipoprotein) of the E. coli cell wall. *European Journal of Biochemistry* 10 (3): 426-438.
- Briggs, D.E.G.; Kear, A.J. (1993): Fossilization of soft tissue in the laboratory. *Science* 259 (5100): 1439-1442.
- Brock, F.; Highham, T.; Bronk Ramsey, C. (2010): Pre-screening techniques for identification of samples suitable for radiocarbon dating of poorly preserved bones. *Journal of Archaeological Science* 37 (4): 855-865.
- Brock, F.; Geoghegan, V.; Thomas, B.; Jurkschat, K.; Higham, T.F.G. (2013): Analysis of bone “collagen” extraction products for radiocarbon dating. *Radiocarbon* 55(2):445-463.
- Brownlee, M.; Vlassara, H.; Cerami, A. (1985): Nonenzymatic glycosylation products on collagen covalently trap low-density lipoprotein. *Diabetes* 34 (9): 938-941.
- Bruns, T.D.; White, T.J.; Taylor, J.W. (1991): Fungal molecular systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics* (22): 525-564.
- Bryant, J.D.; Froelich, P.N. (1995): A model of oxygen isotope fractionation in body water of large mammals. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 59 (21): 4523-4537.
- Bryant, D.J.; Koch, P.L.; Froelich, P.N.; Showers, W.J.; Genna, B.J. (1996): Oxygen isotope partitioning between phosphate and carbonate in mammalian apatite. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 60 (24): 5145-5148.
- Buckley, M.; Collins, M.J. (2011): Collagen survival and its use for species identification in Holocene-lower Pleistocene bone fragments from British archaeological and paleontological sites. *Antiqua* 1 (1): 1-7.
- Buckley, M.; Wadsworth, C. (2014): Proteome degradation in ancient bone: Diagenesis and phylogenetic potential. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 416: 69-79.

- Buehler, M. (2006): Nature designs tough collagen: Explaining the nanostructure of collagen fibrils. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103 (33): 12285-12290.
- Burger, C.; Zhou, H.; Wang, H.; Sics, I.; Hsiao, B.S.; Chu, B.; Graham, L.; Glimcher, M.J. (2008): Lateral packing of mineral crystals in bone collagen fibrils. *Biophysical Journal* 95 (4): 1985–1992.
- Campobasso, C.P.; Di Vella, G.; Introna, F. (2001): Factors affecting decomposition and Diptera colonization. *Forensic Science International* 120 (1-2): 18-27.
- Carden, A.; Morris, M.D. (2000): Application of vibrational spectroscopy to the study of mineralized tissues (review). *Journal of Biomedical Optics* 5 (3): 259-268.
- Carlile, M.J.; Watkinson, S.C.; Gooday, G.W. (2001): *The fungi*. Elsevier Academic Press, Amsterdam, Boston, Heidelberg, London, New York, Oxford, Paris, San Diego, San Francisco, Singapur, Sydney, Tokyo.
- Carter, D.O.; Tibbett, M. (2006): Microbial decomposition of skeletal muscle tissue (*Ovis aries*) in a sandy loam soil at different temperatures. *Soil Biology and Biochemistry* 38 (5): 1139–1145.
- Carter, D.O.; Yellowlees, D.; Tibbett, M. (2007): Cadaver decomposition in terrestrial ecosystems. *Naturwissenschaften* 94 (1): 12-24.
- Carter, D.O.; Tibbett, M. (2008): Cadaver decomposition and soil: Processes. In Tibbett, M.; Carter, D.O. (Hrsg.): *Soil analysis in forensic taphonomy. Chemical and biological effects of buried human remains*. CRC Press, Boca Raton: 29-52.
- Carter, D.O.; Metcalf, J.L.; Bibat, A.; Knight, R. (2015): Seasonal variation of postmortem microbial communities. *Forensic Science, Medicine, and Pathology* 11 (2): 202-207.
- Cerling, T.E.; Harris, J.M.; Ambrose, S.H.; Leakey, M.G.; Solounias, N. (1997): Dietary and environmental reconstruction with stable isotope analyses of herbivore tooth enamel from the Miocene locality Fort Ternan, Kenya. *Journal of Human Evolution* 33 (6): 635-650.
- Chadefaux, C.; Le Hô, A.-S.; Bellot-Gurlet, L.; Reiche, I. (2009): Micro-ATR-FTIR studies combined with the curve-fitting of the amide I and II bands of type I collagen in archaeological bone materials. *ePreservation Science* 6:129–137.
- Chenery, C.; Müldner, G.; Evans, J.; Eckardt, H.; Lewis, M. (2010): Strontium and stable isotope evidence for diet and mobility in Roman Gloucester, UK. *Journal of Archaeological Science* 37 (1): 150-163.
- Child, A.M. (1995a): Microbial taphonomy of archaeological bone. *Studies in Conservation* 40 (1): 19-30.
- Child, A.M. (1995b): Towards and understanding of the microbial decomposition of archaeological bone in the burial environment. *Journal of Archaeological Science* 22: 165-174.
- Cho, G.; Wu, Y.; Ackerman, J.L. (2003): Detection of hydroxyl ions in bone mineral by solid-state NMR spectroscopy. *Science* 300 (5622): 1123-1127.
- Chrzanowski, J.; Irwin, J. C. (1989): Raman scattering from cupric oxide. *Solid State Communications* 70 (1): 11-14.
- Claßen, E.; Schmotz, K. (2011): Ein Glücksfall im denkmalpflegerischen Alltag: Der hallstattzeitliche „Häuptling“ von Otzing. In Greipl, E.J.; Sommer, C.S.; Paffgen, B. (Hrsg.): *Das archäologische Jahr in Bayern*, Theiss: 57-59.
- Clark, M.A.; Worrell, M.B.; Pless, J.E. (1997): Postmortem changes in soft tissues. In Haglund, W.D.; Sorg, M.H. (Hrsg.): *Forensic Taphonomy: The Postmortem Fate of Human Remains*. CRC Press Inc., Boca Raton, London, New York, Washington DC: 151-164.

7. LITERATUR

- Codreanu-Windauer, S.; Schleuder, R. (2013): Gräber des 5. Jahrhunderts von Regensburg-Burgweinting aus archäologischer und anthropologischer Sicht. Bericht der Bayerischen Bodendenkmalpflege 54. Selbstverlag des Bayerischen Landesamtes für Denkmalpflege, Dr. Rudolf Habelt Verlag GmbH, Bonn: 351-362.
- Collins, M.J.; Westbroek, P.; Muyzer, G.; de Leeuw, J.W. (1992): Experimental evidence for condensation reactions between sugars and proteins in carbonate skeletons. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 56 (4): 1539–1544.
- Collins, M.J.; Riley, M.S.; Child, A.M.; Turner-Walker, G. (1995): A basic mathematical simulation of the chemical degradation of ancient collagen. *Journal of Archaeological Science* 22 (2): 175-183.
- Collins, M.J.; Nielsen-Marsh, C.M.; Hiller, J.; Smith, C.I.; Roberts, J.P.; Prigodich, R.V.; Wess, T.J.; Csapò, J.; Millard, A.R.; Turner-Walker, G. (2002): The survival of organic matter in bone: a review. *Archaeometry* 44 (3): 383-394.
- Colson, I.B.; Bailey, J.F. (1997): The preservation of ancient DNA and bone diagenesis. *Ancient Biomolecules* 1: 1-9.
- Coltrain, J.B.; Harris, J.M.; Cerling, T.E.; Ehleringer, J.R.; Dearing, M.-D.; Ward, J.; Allen, J. (2004): Rancho La Brea stable isotope biogeochemistry and its implications for the palaeoecology of late Pleistocene, coastal southern California. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 205 (3-4): 199-219.
- Cowan, R.W.; Seidlitz, E.P.; Singh, G. (2012): Glutamate signalling in healthy and diseased bone. *Frontiers in Endocrinology* 3: 89.
- Craig, H. (1957): Isotopic standards for carbon and oxygen and correction factors for mass-spectrometric analysis of carbon dioxide. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 12 (1-2): 133-149.
- Cross, P.; Simmons, T. (2010): The influence of penetrative trauma on the rate of decomposition. *Journal of Forensic Sciences* 55 (2): 295-301.
- D'Angela, D.; Longinelli, A. (1990): Oxygen isotopes in living mammal's bone phosphate: Further results. *Chemical Geology: Isotope Geoscience section* 86 (1): 75-82.
- Dansgaard, W. (1953): The abundance of O¹⁸ in atmospheric water and water vapour. *Tellus* 5 (4): 461-469.
- Daskalakis, M.I.; Rigas, F.; Bakolas, A.; Magoulas, A.; Kotoulas, G.; Katsikis, I.; Karageorgis, A.P.; Mavridou, A. (2015): Vaterite bio-precipitation induced by *Bacillus pumilus* isolated from a solutional cave in Paiania, Athens, Greece. *International Biodeterioration and Biodegradation* 99: 73-84.
- Dauphin, Y.; Kowalski, C.; Denys, C. (1994): Assemblage data and bone and teeth modifications as an aid to palaeoenvironmental interpretations of the open-air Pleistocene site of Tighenif (Algeria). *Quaternary Research* 42 (3): 340-349.
- Daux, V.; Lécuyer, C.; Héran, M.-A.; Amiot, R.; Simon, L.; Fourel, F.; Martineau, F.; Lynnerup, N.; Reyhler, H.; Escarguel, G. (2008): Oxygen isotope fractionation between human phosphate and water revisited. *Journal of Human Evolution* 55 (6): 1138-1147.
- Dawson, T.E.; Mambelli, S.; Plamboeck, A.H.; Templer, P.H.; Tu, K.P. (2002): Stable isotopes in plant ecology. *Annual Review of Ecology and Systematics* 33: 507-559.
- De Cupere, V.M.; Van Wetter, J.; Rouxhet, P.G. (2003): Nanoscale organization of collagen and mixed collagen-pluronic adsorbed layers. *Langmuir* 19 (17): 6957-6967.
- De Jong, W.F. (1926): La substance minérale dans les os. *Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas* 45 (6): 445-448.

- DeNiro, M.J. (1985): Postmortem preservation and alteration of *in vivo* bone collagen isotope ratios in relation to palaeodietary reconstruction. *Nature* 317: 806-809.
- DeNiro, M.J.; Epstein, S. (1977): Mechanism of carbon isotope fractionation associated with lipid synthesis. *Science* 15 (197): 261-263.
- DeNiro, M.J.; Epstein, S. (1978): Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 42: 495-506.
- DeNiro, M.J.; Weiner, S. (1988): Chemical, enzymatic and spectroscopic characterization of "collagen" and other organic fractions from prehistoric bones. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 52 (9): 2197-2206.
- Dent, B.B.; Forbes, S.L.; Stuart, B.H. (2004): Review of human decomposition processes in soil. *Environmental Geology* 45: 576-585.
- Denys, C. (2002): Taphonomy and experimentation. *Archaeometry* 44 (3): 469-484.
- Deshimaru, R.; Ishitani, K.; Makita, K.; Horiguchi, F.; Nozawa, S. (2005): Analysis of fatty acid composition in human bone marrow aspirates. *The Keio Journal of Medicine* 54 (3): 150-155.
- Dettman, D.L.; Kohn, M.J.; Quade, J.; Ryerson, F.J.; Ojha, T.P.; Hamidullah, S. (2001): Seasonal stable isotope evidence for a strong Asian monsoon throughout the last 10.7 Ma. *Geology* 29 (1): 31-34.
- DeVault, T.L.; Rhodes, O.E.; Shivik, J.A. (2003): Scavenging by vertebrates: behavioral, ecological, and evolutionary perspectives on an important energy transfer pathway in terrestrial ecosystems. *Oikos* 102 (2): 225-234.
- DeVita, V.T.; Chu, E. (2008): A history of cancer chemotherapy. *Cancer Research* 68 (21): 8643-8653.
- Ding, M.; Danielsen, C.C.; Hvid, I. (2001): Bone density does not reflect mechanical properties in early-stage arthrosis. *Acta Orthopaedica Scandinavica* 72 (2): 181-185.
- Dobberstein, R.C.; Huppertz, J.; von Wurmb-Schwark, N.; Ritz-Timme, S. (2009): Degradation of biomolecules in artificially and naturally aged teeth: implications for age estimation based on aspartic acid racemization and DNA analysis. *Forensic Science International* 179:181-191.
- Doblaré, M.; García, J.M.; Gomez, M.J. (2004): Modelling bone tissue fracture and healing: a review. *Engineering Fracture Mechanics* 71: 1809-1840.
- Doner, H.E.; Lynn, W.C. (1989): Carbonate, halide, sulfate, and sulfide minerals. In Dixon, J.B.; Weed, S.B. (Hrsg.): *Minerals in soil environments*. Soil Science Society of America Book Series 1, Madison.
- Doppler, S. (2008): Alters-, Aktivitäts- und Krankheitsmerkmale in der menschlichen Knochenmikrostruktur: Eine vergleichende Studie einer individualaltersbekannten historischen Population mit rezenten Menschen. Dissertation, Fakultät für Biologie, Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Dormann, C.F.; Kühn, I. (2011): *Angewandte Statistik für die biologischen Wissenschaften*. Helmholtz Zentrum für Umweltforschung-UFZ.
- Dorozhkin, S.V.; Epple, M. (2002): Biological and medical significance of calcium phosphates. *Angewandte Chemie, International Edition* 41 (17): 3130-3146.
- Duff, E.J.; Johnson, J.S. (1963): Some social and forensic aspects of exhumation and interment of industrial revolution remains. *British Medical Journal* 1 (5907): 563-567.
- Dungworth, G.; Vrenken, J.A.T.; Schwartz, A.W. (1975): Amino acid composition of Pleistocene collagens. *Comparative Biochemistry and Physiology* 51B: 331-335.

7. LITERATUR

- Dupras, T.L.; Schwarcz, H.P. (2001): Strangers in a strange land: Stable isotope evidence for human migration in the Dakhleh Oasis, Egypt. *Journal of Archaeological Science* 28 (11): 1199-1208.
- Edwards, C. J.; Hart, D. J.; Spector, T. D. (2000): Oral statins and increased bone-mineral density in postmenopausal women. *The Lancet* 355 (9222): 2218-2219.
- Efremov, I. (1940): Taphonomy: New branch of paleontology. *Pan-American Geologist* 74 (2): 81-93.
- Ehrlich, H.L. (2002): *Geomicrobiology*. Marcel Dekker, Inc., New York, Basel.
- Eick, S.; Pfister, W.; Korn-Stemme, S.; Mägdefessel-Schmutzer, U.; Straube, E. (2000): Pathogen and resistance spectrum of anaerobic bacteria in intraoral maxillofacial infections. *Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie* 4 (4): 234-239.
- Elliott, J.C. (2002): Calcium phosphate biominerals. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry* 48 (1): 427-453.
- Elliott, T.A.; Grime, G.W. (1993): Examining the diagenetic alteration of human bone material from a range of archaeological burial sites using nuclear microscopy. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms* 77 (1-4): 537-547.
- Elsden, S. R.; Hilton, M. G. (1978): Volatile acid production from threonine, valine, leucine and isoleucine by clostridia. *Archives of Microbiology* 117 (2): 165-172.
- Endo, A.; Murakawa, S.; Shimizu, H.; Shiraishi, Y. (1987): Purification and properties of collagenase from a *Streptomyces* species. *Journal of Biochemistry* 102 (1): 163-170.
- Evans, J.; Stoodley, N.; Chenery, C. (2006): A strontium and oxygen isotope assessment of a possible fourth century immigrant population in a Hampshire cemetery, southern England. *Journal of Archaeological Science* 33 (2): 265-272.
- Farlay, D.; Panczer, G.; Rey, C.; Delmas, P.D.; Boivin, G. (2010): Mineral maturity and crystallinity index are distinct characteristics of bone mineral. *Journal of Bone and Mineral Metabolism* 28 (4): 433-445.
- Félix, M.A. (2006): *Oscheius tipulae*. In *The C. elegans Research Community* (Hrsg.): *WormBook*. doi/10.1895/wormbook.1.119.1.
- Fernández-Jalvo, Y.; Denys, C.; Andrews, P.; Williams, T.; Dauphin, Y.; Humphrey, L. (1998): Taphonomy and palaeoecology of Olduvai Bed-I (Pleistocene, Tanzania). *Journal of Human Evolution* 34 (2): 137-172.
- Fernández-Jalvo, Y.; Sánchez-Chillón, B.; Andrews, P.; Fernández-López, S. (2002): Morphological taphonomic transformations of fossil bones in continental environments, and repercussions on their chemical composition. *Archaeometry* 44 (3): 353-361.
- Fernández-Jalvo, Y.; Andrews, P.; Pesquero, D.; Smith, C.; Marín-Monfort, D.; Sánchez, B.; Geigl, E.-M.; Alonso, A. (2010): Early bone diagenesis in temperate environments: Part I: Surface features and histology. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 288 (1-4): 62-81.
- Fiderer, C.T. (2011): Sukzession der Nutzung von Luchsrissen (*Lynx lynx*) durch Scavenger im Nationalpark Bayerischer Wald. Bachelorarbeit, Fakultät für Forst und Umweltwissenschaften, Forstzoologisches Institut, Arbeitsbereich für Wildtierökologie und Wildtiermanagement, Albert-Ludwigs-Universität Freiburg.
- Fiedler, S.; Graw, M. (2003): Decomposition of buried corpses, with special reference to the formation of adipocere. *Naturwissenschaften* 90 (7): 291-300.
- Fiedler, S.; Breuer, J.; Pusch, C.M.; Holley, S.; Wahl, J.; Ingwersen, J.; Graw, M. (2012): Graveyards - Special landfills. *Science of the Total Environment* 419: 90-97.
- Field, A.; Miles, J.; Field, Z. (2012): *Discovering statistics using R*. Sage, Los Angeles, London, New Delhi, Singapore, Washington DC.

- Fitzpatrick, R.W. (2008): Nature, distribution, and origin of soil materials in the forensic comparison of soils. In Tibbett, M.; Carter, D.O. (Hrsg.): Soil analysis in forensic taphonomy. Chemical and biological effects of buried human remains. CRC Press, Boca Raton: 1-28.
- Fitzpatrick, R.W.; McKenzie, N.J.; Maschmedt, D. (1999): Soil morphological indicators and their importance to soil fertility. In Peverill, K.; Sparrow, L.A.; Reuter, D.J. (Hrsg.): Soil analysis: an interpretation manual. CSIRO Publishing, Melbourne: 55-69.
- Forbes, S.L.; Stuart, B.H.; Dadour, I.R.; Dent, B.B. (2004): A preliminary investigation of the stages of adipocere formation. *Journal of Forensic Sciences* 49 (3): 566-574.
- Forbes, S.L.; Stuart, B.H.; Dent, B.B. (2005a): The effect of the burial method on adipocere formation. *Forensic Science International* 154 (1): 24-34.
- Forbes, S.L.; Dent, B.B.; Stuart, B.H. (2005b): The effect of soil type on adipocere formation. *Forensic Science International* 154 (1): 35-43.
- Forbes, S.L. (2008): Decomposition chemistry in a burial environment. In Tibbett, M.; Carter, D.O. (Hrsg.): Soil analysis in forensic taphonomy. Chemical and biological effects of buried human remains. CRC Press, Boca Raton: 203-224.
- France, C. A. M.; Owsley, D. W. (2015): Stable carbon and oxygen isotope spacing between bone and tooth collagen and hydroxyapatite in human archaeological remains. *International Journal of Osteoarchaeology* 25 (3): 299-312.
- France, C.A.M.; Thomas, D.B.; Doney, C.R.; Madden, O. (2014): FT-Raman spectroscopy as a method for screening collagen diagenesis in bone. *Journal of Archaeological Science* 42: 346-355.
- Franklin, T.J.; Snow, G.A. (1998): Biochemistry and molecular biology of antimicrobial drug action. Springer Science + Business Media, Dordrecht.
- Fratzl, P.; Gupta, H.S.; Paschalis, E.P.; Roschger, P. (2004): Structure and mechanical quality of the collagen-mineral nano-composite in bone. *Journal of Materials Chemistry* 14: 2115-2123.
- Fratzl, P.; Weinkamer, R. (2007): Nature's hierarchical materials. *Progress in Materials Science* 52 (8): 1263-1334.
- Freeman, J.J.; Wopenka, B.; Pasteris, J.D. (2001): Raman spectroscopic detection of changes in bioapatite in mouse femora as a function of age and in vitro fluoride treatment. *Calcified Tissue International* 68 (3): 156-162.
- Froehle, A.W.; Kellner, C.M.; Schoeninger, M.J. (2010): Focus: effect of diet and protein source on carbon stable isotope ratios on collagen: follow up to Warinner und Tuross (2009): *Journal of Archaeological Science* 37 (10): 2662-2670.
- Frost, R.L.; Martens, W.N.; Rintoul, L.; Mahmutagic, E.; Klopogge, J.T. (2002): Raman spectroscopic study of azurite and malachite at 298 and 77 K. *Journal of Raman Spectroscopy* 33 (4): 252-259.
- Fründ, H.-C.; Schoenen, D. (2009): Quantification of adipocere degradation with and without access to oxygen and to the living soil. *Forensic Science International* 188 (1-3): 18-22.
- Fry, B. (2006): Stable isotope ecology. Springer, New York.
- Fujimori, E. (1989): Cross-linking and fluorescence changes of collagen by glycation and oxidation. *Biochimica et Biophysica Acta - Protein Structure and Molecular Enzymology* 998 (5): 105-110.
- Galloway, A., Willey, P.; Snyder, L. (1997). Human bone mineral densities and survival of bone elements: A contemporary sample. In Haglund, W.D.; Sorg, M.H. (Hrsg.): *Forensic Taphonomy: The Postmortem Fate of Human Remains*. CRC Press Inc., Boca Raton, London, New York, Washington DC: 279-317.

7. LITERATUR

- García-Estrada, C.; Martín, J.-F. (2014): Penicillins. In García-Estrada, C.; Martín, J.-F.; Zeilinger, S. (Hrsg.): Biosynthesis and molecular genetics of fungal secondary metabolites. Springer, New York, Heidelberg, Dordrecht, London: 17-42.
- Garland, A. N. (1987): A histological study of archaeological bone decomposition. In Boddington, A.; Garland, A.N.; Janaway, R.C. (Hrsg.): Death, decay and reconstruction. Manchester University Press, Manchester: 109-126.
- Garland, N.A. (1989): Microscopic analysis of fossil bone. *Applied Geochemistry* 4 (3): 215-229.
- Garvie-Lok, S.J.; Varney, T.L.; Katzenberg, M.A. (2004): Preparation of bone carbonate for stable isotope analysis: the effects of treatment time and acid concentration. *Journal of Archaeological Science* 31 (6): 763-776.
- Gat, J.R. (1996): Oxygen and hydrogen isotopes in the hydrologic cycle. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences* 24: 225-262.
- Gautieri, A.; Redaelli, A.; Buehler, M.J.; Vesentini, S. (2014): Age- and diabetes-related nonenzymatic crosslinks in collagen fibrils: Candidate amino acids involved in Advanced Glycation End-products. *Matrix Biology* 34: 89-95.
- Gerber, N.N.; Lechevalier, H.A. (1965): Geosmin, an earthy-smelling substance isolated from actionmycetes. *Applied and Environmental Microbiology* 13 (6): 935-938.
- Gernaey, A.M.; Waite, E.R.; Collins, M.J.; Craig, O.E.; Sokol, R.J. (2001): Survival and interpretation of archaeological proteins. In Brothwell, D.R.; Pollard, A.M. (Hrsg.): Handbook of Archaeological Science. Jon Wiley & Sons, Chichester, New York, Weinheim: 323-329
- Gill-King, H. (1997): Chemical and ultrastructural aspects of decomposition. In Haglund, W.D.; Sorg, M.H. (Hrsg.): Forensic Taphonomy: The Postmortem Fate of Human Remains. CRC Press Inc., Boca Raton, London, New York, Washington DC: 93-108.
- Giraud-Guille, M.M. (1988): Twisted plywood architecture of collagen fibrils in human compact bone. *Calcified Tissue International* 42: 167-180.
- Glimcher, M.J. (2006): Bone: Nature of the calcium phosphate crystals and cellular, structural, and physical chemical mechanisms in their formation. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry* 64: 223-282.
- Gonzalez-Reimers, E.; Rodriguez-Moreno, F.; Martinez-Riera, A.; Mas-Pascual, A.; Delgado-Ureta, E.; Galindo-Martin, L.; Arnay-de La Rosa, M.; Santolaria-Fernandez, F. (1999): Relative and combined effects of ethanol and protein deficiency on strontium and barium bone content and fecal and urinary excretion. *Biological Trace Element Research* 68 (1): 41-49.
- Gorna, K.; Gogolewski, S. (2003): The effect of gamma radiation on molecular stability and mechanical properties of biodegradable polyurethanes for medical applications. *Polymer Degradation and Stability* 79 (3): 465-474.
- Grassberger, M.; Frank, C. (2004): Initial study of arthropod succession on pig carrion in a Central European urban habitat. *Journal of Medical Entomology* 41 (3): 511-523.
- Grigat, A. (2014): Wie realitätsnah sind klassisch-anthropologische Proxydaten wirklich? Der Testfall einer Skelettserie aus der Zeit des demographischen Übergangs. Dissertation, Fakultät für Biologie, Institut für Anthropologie und Humangenetik, Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Grimes, S.T.; Matthey, D.P.; Hooker, J.J.; Collinson M.E. (2003): Paleogene paleoclimate reconstruction using oxygen isotopes from land and freshwater organisms: the use of multiple paleoproxies. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 67 (21): 4033-4047.

- Grunenwald, A.; Keyser, C.; Sautereau, A. M.; Crubézy, E.; Ludes, B.; Drouet, C. (2014): Adsorption of DNA on biomimetic apatites: Toward the understanding of the role of bone and tooth mineral on the preservation of ancient DNA. *Applied Surface Science* 292: 867-875.
- Grupe, G. (2007): Taphonomic and diagenetic processes. In Henke, W.; Tattersall, I. (Hrsg.): *Handbook of Paleoanthropology*. Springer, Berlin, Heidelberg, New York: 241-259.
- Grupe, G.; Piepenbrink, H. (1989): Impact of microbial activity on trace element concentrations in excavated bones. *Applied Geochemistry* 4 (3): 293-298.
- Grupe, G.; Dreses-Werringloer, U.; Parsche, F. (1993): Initial stages of bone decomposition: Causes and consequences. In Lambert, J.B.; Grupe, G. (Hrsg.): *Prehistoric human bone. Archaeology at the molecular level*. Springer, Berlin, Heidelberg: 257-274.
- Grupe, G.; Turban-Just, S. (1998): Amino acid composition of degraded matrix collagen from archaeological human bone. *Anthropologischer Anzeiger* 56 (3): 213-226.
- Grupe, G.; Mikic, Z.; Peters, J.; Manhart, H. (2003): Vertebrate food webs and subsistence strategies of Meso- and Neolithic populations of central Europe. *Documenta Archaeobiologiae* 1, Verlag Marie Leidorf GmbH, Rahden: 193-213.
- Grupe, G.; Harbeck, M.; McGlynn, G. (2015): *Prähistorische Anthropologie*. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Gügi, B.; Orange, N.; Hellio, F.; Burini, J.F.; Guillois, C.; LeRiche, F.; Guespin-Michel, J.F. (1991): Effect of growth temperature on several exported enzyme activities in the psychrotrophic bacterium *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of Bacteriology* 173 (12): 3814-3820.
- Gupta, R.; Beg, Q.; Khan, S.; Chauhan, B. (2002): An overview on fermentation, downstream processing and properties of microbial alkaline proteases. *Applied Microbiology and Biotechnology* 60 (4): 381-395.
- Haagsma, J. (1991): Pathogenic anaerobic bacteria and the environment. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)* 10 (3): 749-764.
- Hackett, C.J. (1981): Microscopical focal destruction (tunnels) in exhumed human bones. *Medicine, Science and the Law* 21 (4): 243-265.
- Halcrow, S.E.; Rooney, J.; Beavan, N.; Gordon, K.C.; Tayles, N.; Gray, A. (2014): Assessing Raman spectroscopy as a prescreening tool for the selection of archaeological bone for stable isotopic analysis. *PLoS ONE* 9(7): e98462. doi:10.1371/journal.pone.0098462.
- Handschin, R.G.; Stern, W.B. (1995): X-ray diffraction studies on the lattice perfection of human bone apatite (Crista iliaca). *Bone* 16 (4): S355-S363.
- Hanzi, M.; Shimizu, M.; Hearn, V.M.; Monod, M. (1993): A study of the alkaline proteases secreted by different *Aspergillus* species. *Mycoses* 36 (11-12): 351-356.
- Harbeck, M. (2007): *Molekularbiologische Parameter liegemilieubedingter Knochenalterung – Implikationen für die biologische Spurenkunde*. Dissertation, Fakultät für Biologie, LMU München.
- Harbeck, M.; Grupe, G. (2009): Experimental chemical degradation compared to natural diagenetic alteration of collagen: implications for collagen quality indicators for stable isotope analysis. *Archaeological and Anthropological Sciences* 1: 143-157.
- Hare, P.E. (1980): Organic geochemistry of bone and its relation to the survival of bone in the natural environment. In Behrensmeyer, A.K.; Hill, A.P. (Hrsg.): *Fossils in the making. Vertebrate taphonomy and palaeoecology*. The University of Chicago Press, Chicago, London: 208-219.
- Hare, P.E.; Fogel, M.L.; Stafford, T.W.S.; Mitchell, A.D.; Hoering, T.C. (1991): The isotopic composition of carbon and nitrogen in individual amino acid isolated from modern and fossil proteins. *Journal of Archaeological Science* 18: 277-292.

7. LITERATUR

- Harrington, D.J. (1996): Bacterial collagenases and collagen-degrading enzymes and their potential role in human disease. *Infection and Immunity* 64 (6): 1885–1891.
- Harrison, R.G.; Katzenberg, M.A. (2003): Paleodiet studies using stable carbon isotopes from bone apatite and collagen: examples from Southern Ontario and San Nicolas Island, California. *Journal of Anthropological Archaeology* 22 (3): 227–244.
- Hartard, B.; Cuntz, M.; Máguas, C.; Lakatos, M. (2009): Water isotopes in desiccating lichens. *Planta* 231 (1): 179–193.
- Haskell, N.H.; Hall, R.D.; Cervenka, V.J.; Clark, M.A. (1997): On the body: Insects' life stage presence and their postmortem artifacts. In Haglund, W.D.; Sorg, M.H. (Hrsg.): *Forensic Taphonomy: The Postmortem Fate of Human Remains*. CRC Press Inc., Boca Raton, London, New York, Washington DC: 415–448.
- Hauschka, P. V.; Lian, J. B.; Cole, D. E.; Gundberg, C. M. (1989): Osteocalcin and matrix Gla protein: vitamin K-dependent proteins in bone. *Physiological Reviews* 69 (3): 990–1047.
- Hawksworth, D.L.; Wiltshire, P.E.J. (2011): Forensic mycology: the use of fungi in criminal investigations. *Forensic Science International* 206 (1–3): 1–11.
- Hayman, J.; Oxenham, M. (2015): Peri-mortem disease treatment: a little known cause of error in the estimation of the time since death in decomposing human remains. *Australian Journal of Forensic Sciences*, DOI: 10.1080/00450618.2015.1042048: 1–15.
- Hedges, R.E.M. (2002): Bone diagenesis: an overview of processes. *Archaeometry* 44 (3): 319–328.
- Hedges, R.E.M.; Millard, A.R. (1995): Bones and groundwater: Towards the modelling of diagenetic processes. *Journal of Archaeological Science* 22 (2): 155–164.
- Hedges, R.E.M.; Millard, A.R.; Pike, A.W.G. (1995): Measurements and relationships of diagenetic alteration of bone from three archaeological sites. *Journal of Archaeological Science* 22 (2): 201–209.
- Hedges, R.E.M.; Reynard, L.M. (2007): Nitrogen isotopes and the trophic level of humans in archaeology. *Journal of Archaeological Science* 34 (8): 1240–1251.
- Hensch, M. (2005): *Burg Sulzbach in der Oberpfalz, Archäologisch-historische Forschungen zur Entwicklung eines Herrschaftszentrums des 8. bis 14. Jahrhunderts in Nordbayern*, Verlag Dr. Faustus, Büchenbach.
- Henderson, C.Y.; King, G.A.; Caffell, A.C.; Allen, R. (2013): Adipocere inside nineteenth century femora: The effect of grave conditions. *International Journal of Osteoarchaeology* 25 (6): 960–967.
- Herring, D.A.; Saunders, S.R.; Katzenberg, M.A. (1998): Investigating the weaning process in past populations. *American Journal of Physical Anthropology* 105 (4): 425–439.
- Herrmann, B.; Newesely, H. (1982): Dekompositionsvorgänge des Knochens unter langer Liegezeit 1. Die mineralische Phase. *Anthropologischer Anzeiger* 40: 19–31.
- Herrmann, B.; Grupe, G.; Hummel, S.; Piepenbrink, H.; Schutkowski, H. (1990): *Prähistorische Anthropologie, Leitfaden der Feld- und Labormethoden*. Springer, Berlin, Heidelberg, New York.
- Herrmann, B.; Danielmeyer, A. (1994): Bone structures reflecting rhythm, seasonality, and life-style of past human populations. *Naturwissenschaften* 81 (9): 399–401.
- Higgins, I.J.; Burns, R.G. (1975): *Chemistry and Microbiology of Pollution*. Academic Press, London, New York.
- Hiller, J.C.; Collins, M.J.; Chamberlain, A.T.; Wess, T.J. (2004): Small-angle X-ray scattering: a high-throughput technique for investigating archaeological bone preservation. *Journal of Archaeological Science* 31 (10): 1349–1359.

- Hipkiss, A.R. (1998): Carnosine, a protective, anti-ageing peptide? *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 30 (8): 863–868.
- Hipkiss, A.R.; Brownson, C.; Bertani, M.F.; Ruiz, E.; Ferro, A. (2002): Reaction of carnosine with aged proteins. Another protective process? *Annals of the New York Academy of Sciences* 959: 285–294.
- Hirsch, A.; Azuri, I.; Addadi, L.; Weiner, S.; Yang, K.; Curtarolo, S.; Kronik, L. (2014): Infrared absorption spectrum of brushite from first principles. *Chemistry of Materials* 26 (9): 2934–2942.
- Hobson, K.A.; Alisaukas, R.T.; Clark, R.G. (1993): Stable-nitrogen isotope enrichment in avian tissues due to fasting and nutritional stress: Implications for isotopic analyses of diet. *The Condor* 95 (2): 388–394.
- Hoke, N. (2008): UV-Fluoreszenzanalysen an Knochen im Kontext der Dekompositionsforschung. Diplomarbeit, Fakultät für Biologie, Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Hoke, N.; Burger, J.; Weber, C.; Benecke, N.; Grupe, G.; Harbeck, M. (2011): Estimating the chance of success of archaeometric analyses of bone: UV-induced bone fluorescence compared to histological screening. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 310 (1-2): 23–31.
- Hoefs, J. (2009): *Stable isotope geochemistry*. 6. Auflage. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Hollund, H.I.; Jans, M.M.E.; Collins, M.J.; Kars, H.; Joosten, I.; Kars, S.M. (2012): What happened here? Bone histology as a tool in decoding the postmortem histories of archaeological bone from Castricum, The Netherlands. *International Journal of Osteoarchaeology* 22 (5): 537–548.
- Hollund, H.; Ariese, F.; Fernandes, R.; Jans, M.M.E.; Kars, H. (2013): Testing an alternative high-throughput tool for investigating bone diagenesis: FTIR in attenuated total reflection (ATR) mode. *Archaeometry* 55 (3): 507–532.
- Hopkins, D.W.; Wiltshire, P.E.J.; Turner, B.D. (2000): Microbial characteristics of soils from graves: an investigation at the interface of soil microbiology and forensic science. *Applied Soil Ecology* 14 (3): 283–288.
- Hopkinson, K.; Yeats, S.; Scott, G. (2008): For whom the coin tolls: green stained teeth and jaws in medieval and post-medieval Spanish burials. *Dental Anthropology* (21): 12–17.
- Hou, W.-C.; Cheng, H.-J.; Lin, Y.-H. (2003): Antioxidant peptides with angiotensin converting enzyme inhibitory activities and applications for angiotensin converting enzyme purification. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51 (6): 1706–1709.
- Howland, M.R.; Corr, L.T.; Young, S.M.M.; Jones, V.; Jim, S.; van der Merwe, N.J.; Mitchell, A.D.; Evershed, R.P. (2003): Expression of the dietary isotope signal in the compound-specific $\delta^{13}\text{C}$ values of pig bone lipid and amino acids. *International Journal of Osteoarchaeology* 13: 54–65.
- Hucalak, M.; Rogers, T.L. (2009): Reconstructing the sequence of events surrounding body disposition based on color staining of bone. *Journal of Forensic Sciences* 54 (5): 979–984.
- Hueck, H.J. (2001): The biodeterioration of materials – an appraisal. *International Biodeterioration and Biodegradation* 48 (1-4): 5–11.
- Hughes, J.M.; Rakovan, J. (2002): The crystal structure of apatite, $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{F},\text{OH},\text{Cl})$. In Kohn, M.J.; Rakovan, J.; Hughes, J.M. (Hrsg.): *Phosphates: Geochemical, Geobiological and Material Importance. Reviews in Mineralogy and Geochemistry* 48, Mineralogical Society of America, Washington D.C.: 1–12.
- Iacumin, P.; Bocherens, H.; Mariotti, A.; Longinelli, A. (1996): Oxygen isotope analyses of co-existing carbonate and phosphate in biogenic apatite: a way to monitor diagenetic alteration of bone phosphate? *Earth and Planetary Science Letters* 142 (1-2): 1–6.

7. LITERATUR

- Ingham, E.R.; Cambardella, C.; Coleman, D.C. (1986): Manipulation of bacteria, fungi and protozoa by biocides in Lodgepole pine forest soil microorganisms: Effects on organism interactions and nitrogen mineralization. *Canadian Journal of Soil Science* 66 (2): 261-272.
- Ishii, K.; Hitosugi, M.; Kido, M.; Yaguchi, T.; Nishimura, K.; Hosova, T.; Tokudome, S. (2006): Analysis of fungi detected in human cadavers. *Legal Medicine* 8 (3): 188-190.
- Jackes, M.; Sherburne, R.; Lubell, D.; Barker, C.; Wayman, M. (2001): Destruction of microstructure in archaeological bone: a case study from Portugal. *International Journal of Osteoarchaeology* 11: 415-432.
- Jackson, M.L. (1958): Soil chemical analysis. Prentice-Hall, Englewood Cliffs.
- Jackson, S.A.; Cartwright, A.G.; Lewis, D. (1978): The morphology of bone mineral crystals. *Calcified Tissue Research* 25 (1): 217-222.
- Janaway, R.C. (1996): The decay of buried human remains and their associated materials. In Heron, C.; Hunter, J.; Roberts, C.; Martin, A.; (Hrsg.): *Studies in crime: An introduction to forensic archaeology*. B.T. Batsford: 58-85.
- Janaway, R.C.; Percival, S.L.; Wilson, A.S. (2009): Decomposition of human remains. In Percival, S.L. (Hrsg.): *Microbiology and Aging. Clinical Manifestations*. Springer, New York: 313-334.
- Jans, M.M.E. (2008): Microbial bioerosion of bone – a review. In Wisshak, M.; Tapanila, L. (Hrsg.): *Current Developments in Bioerosion*. Erlangen Earth Conference Series. Springer, Berlin, Heidelberg: 397-413.
- Jans, M.M.E. (2013): Microscopic destruction of bone. In Pokines, J.T.; Symes, S.A. (Hrsg.): *Manual of forensic taphonomy*. CRC Press, Boca Raton, London, New York: 19-36.
- Jans, M.M.E.; Kars, H.; Nielsen-Marsh, C.M.; Smith, C.I.; Nord, A.G.; Arthur, P.; Earl, N. (2002): *In situ* preservation of archaeological bone: a histological study within a multidisciplinary approach. *Archaeometry* 44 (3): 343-352.
- Jans, M.M.E.; Nielsen-Marsh, C.M.; Smith, C.I.; Collins, M.J.; Kars, H. (2004): Characterisation of microbial attack on archaeological bone. *Journal of Archaeological Science* 31 (1): 87-95.
- Janssen, B.; Hohenadel, D.; Brinkkoetter, P.; Peters, V.; Rind, N.; Fischer, C.; Rychlik, I.; Cerna, M.; Romzova, M.; de Heer, E.; Baelde, H.; Bakker, S.J.L.; Zirie, M.; Rondeau, E.; Mathieson, P.; Saleem, M.A.; Meyer, J.; Köppel, H.; Sauerhoefer, S.; Bertram, C.R.; Nawroth, P.; Hammes, H.-P.; Yard, B.A.; Zschocke, J.; van der Woude, F.J. (2005): Carnosine as a protective factor in diabetic nephropathy. Association with a leucine repeat of the carnosinase gene CNDP1. *Diabetes* 54 (8): 2320-2327.
- Janzen, D.H. (1977): Why fruits rot, seeds mold, and meat spoils. *The American Naturalist* 111 (980): 691-713.
- Jarvis, D.R. (1997): Nitrogen levels in long bones from coffin burials interred for periods of 26–90 years. *Forensic Science International* 85 (3): 199–208.
- Jay, M.; Fuller, B.T.; Richards, M.P.; Knüsel, C.J.; King, S.S. (2008): Iron Age breastfeeding practices in Britain: Isotopic evidence from Wetwang Slack, East Yorkshire. *American Journal of Physical Anthropology* 136 (3): 327-337.
- Jiang, X.; Ye, M.; Jiang, X.; Liu, G.; Feng, S.; Cui, L.; Zou, H. (2007): Method development of efficient protein extraction in bone tissue for proteome analysis. *Journal of Proteome Research* 6: 2287-2294.
- Johnson, M.D. (1975): Seasonal and microseral variations in the insect populations on carrion. *American Midland Naturalist* 93 (1): 79-90.
- Jones, A.M.; O'Connell, T.C.; Young, E.D.; Scott, K.; Buckingham, C.M.; Iacumin, P.; Brasier, M.D. (2001): Biogeochemical data from well preserved 200 ka collagen and skeletal remains. *Earth and Planetary Science Letters* 193 (1-2): 143-149.

- Kampfer, P. (2012): Genus I. Streptomyces. In De Vos, P.; Garrity, G.M.; Jones, D.; Krieg, N.R.; Ludwig, W.; Rainey, F.A.; Schleifer, K.-H.; Whitman, W.B. (Hrsg.): *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* 5. Springer, New York: 1455-1469.
- Kasper, H.; Burghardt, W. (2009): *Ernährungsmedizin und Diätetik*. Elsevier, Urban und Fischer, München.
- Katz, E.P.; Li, S.-T. (1973): Structure and function of bone collagen fibrils. *Journal of Molecular Biology* 80 (1): 1-15.
- Katz, M.E.; Flynn, P.K.; van Kuyk, P.A.; Cheetham, B.F. (1996): Mutations affecting extracellular protease production in the filamentous fungus *Aspergillus nidulans*. *Molecular and General Genetics MGG* 250 (6): 715-724.
- Katzenberg, M.A. (2000): Stable isotope analysis: a tool for studying past diet, demography and life history. In: Katzenberg, M.A.; Saunders, S.R. (Hrsg.): *The Biological Anthropology of the Human Skeleton*. John Wiley and Sons, New York: 305-327.
- Katzenberg, M.A.; Lovell, N.C. (1999): Stable isotope variation in pathological bone. *International Journal of Osteoarchaeology* 9: 316-324.
- Keller, M.; Rott, A.; Hoke, N.; Schwarzberg, H.; Regner-Kamlah, B.; Harbeck, M.; Wahl, J. (2015): United in death—related by blood? Genetic and archeometric analyses of skeletal remains from the Neolithic earthwork Bruchsal-Aue. *American Journal of Physical Anthropology* 157 (3): 458-471.
- Kellner, C.M.; Schoeninger, M.J. (2007): A simple carbon isotope model for reconstructing prehistoric human diet. *American Journal of Physical Anthropology* 133 (4): 1112-1127.
- Kelly, J.A. (2006): The influence of clothing, wrapping and physical trauma on carcass decomposition and arthropod succession in central South Africa. PhD thesis, Department of Zoology and Entomology, University of the Free State, Bloemfontein, South Africa.
- King, C.L.; Tayles, N.; Gordon, K.C. (2011): Re-examining the chemical evaluation of diagenesis in human bone apatite. *Journal of Archaeological Science* 38 (9): 2222-2230.
- Kinne, A. (2009): *Tabellen und Tafeln zur Grabungstechnik. Ein Hilfsmittel für die archäologische Geländearbeit*. Selbstverlag, Dresden: 105.
- Kirsanow, K.; Tuross, N. (2011): Oxygen and hydrogen isotopes in rodent tissues: Impact of diet, water and ontogeny. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 310 (1-2): 9-16.
- Klippel, W.E.; Synstelien, J.A. (2007): Rodents as taphonomic agents: Bone gnawing by brown rats and gray squirrels. *Journal of Forensic Sciences* 52 (4): 765-773.
- Koch, P.L.; Tuross, N.; Fogel, M.L. (1997): The effects of sample treatment and diagenesis on the isotopic integrity of carbonate in biogenic hydroxylapatite. *Journal of Archaeological Science* 24: 417-429.
- Kohn, M.J.; Schoeninger, M.J.; Valley, J.W. (1996): Herbivore tooth oxygen isotope compositions: Effects of diet and physiology. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 60 (20): 3889-3896.
- Kohn, M.J.; Cerling, T.E. (2002): Stable Isotope compositions of biological apatite. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry* 48 (1): 455-488.
- Kolo, K.; Keppens, E.; Pr  at, A.; Claeys, P. (2007): Experimental observations on fungal diagenesis of carbonate substrates. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences* 112 (G1): 1-20.
- Kolodny, Y.; Luz, B.; Sander, M.; Clemens, W.A. (1996): Dinosaur bones: Fossils or pseudomorphs? The pitfalls of physiology reconstruction from apatitic fossils. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 126 (1-2): 161-171.

7. LITERATUR

- Komar, D.A. (1998): Decay rates in a cold climate region: a review of cases involving advanced decomposition from the Medical Examiner's Office in Edmonton, Alberta. *Journal of Forensic Sciences* 43 (1): 57-61.
- Koon, H.E.C.; O'Connor, T.P.; Collins, M.J. (2010): Sorting the butchered from the boiled. *Journal of Archaeological Science* 37 (1): 62-69.
- Koschack, J. (2008): Standardabweichung und Standardfehler: der kleine, aber feine Unterschied. *Zeitschrift für Allgemeinmedizin* 84: 258-260.
- Knorre, H.v.; Krumbein, W.E. (2000): Bacterial calcification. In Riding, R.E.; Awramik, S.M. (Hrsg.): *Microbial sediments*. Springer, Berlin, Heidelberg: 25-31.
- Krueger, H.W. (1991): Exchange of carbon with biological apatite. *Journal of Archaeological Science* 18 (3): 355-361.
- Kuczumow, A.; Cukrowska, E.; Stachniuk, A.; Gaweda, R.; Mroccka, R.; Paszkowicz, W.; Skrzyüiec, K.; Falkenberg, R.; Backwell, L. (2010): Investigation of chemical changes in bone material from South African fossil hominid deposits. *Journal of Archaeological Science* 37 (1): 107-115.
- Kück, U.; Nowrousian, M.; Reiß, J.; Hoff, B.; Engh, I. (2009): *Schimmelpilze: Lebensweise, Nutzen, Schaden, Bekämpfung*. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Kuhn, L.T.; Gryn timer, M.D.; Rey, C.C.; Wu, Y.; Ackerman, J.L.; Glimcher, M. (2008): A comparison of the physical and chemical differences between cancellous and cortical bovine bone mineral at two ages. *Calcified Tissue International* 83 (2): 146-154.
- Kunter, U. (2014): *Geriatrische Nephrologie*. In Lehnert, H. (Hrsg.): *Springer Reference Innere Medizin*. Springer, Berlin, Heidelberg: 1-14.
- Lambert, J.B.; Vlasak Simpson, S.; Buikstra, J.E.; Hanson, D. (1983): Electron microprobe analysis of elemental distribution in excavated human femurs. *American Journal of Physical Anthropology* 62 (4): 409-423.
- Lafuente, B.; Downs, R.T.; Yang, H.; Stone, N. (2015): The power of databases: the RRUFF project. In: Armbruster, T.; Danisi, R.M. (Hrsg.): *Highlights in Mineralogical Crystallography*. De Gruyter, Berlin: 1-30.
- Lebon, M.; Reiche, I.; Fröhlich, F.; Bahain, J.-J.; Falguères, C. (2008): Characterization of archaeological burnt bones: contribution of a new analytical protocol based on derivative FTIR spectroscopy and curve fitting of the $\nu_1 \nu_3 \text{PO}_4$ domain. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 392 (7-8): 1479-1488.
- Lebon, M.; Müller, K.; Bahain, J.J.; Fröhlich, F.; Falguères, C.; Bertrand, L.; Sandt, C.; Reiche, I. (2011): Imaging fossil bone alterations at the microscale by SR-FTIR microspectroscopy. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 26 (5): 922-929.
- Lécuyer, C.; Grandjean, P.; Sheppard, S.M.F. (1999): Oxygen isotope exchange between dissolved phosphate and water at temperatures $\leq 135^\circ\text{C}$: inorganic versus biological fractionations. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 63 (6): 855-862.
- Leduc, T. (2012): Diagenesis of the fossil bones of *Iguanodon bernissartensis* from the Iguanodon sinkhole. In Godefroit, P. (Hrsg.): *Bernissart Dinosaurs and Early Cretaceous Terrestrial Ecosystems*. Indiana University Press, Bloomington, Indiana: 113-136.
- Lee-Thorp, J.A. (2002): Preservation of biogenic carbon isotopic signals in Plio-Pleistocene bone and tooth mineral. In Ambrose, S.H.; Katzenberg, M.A. (Hrsg.): *Biogeochemical Approaches to Paleodietary Analysis*. Kluwer Academic Publishers, New York, Boston, Dordrecht, London, Moskau: 89-115.
- Lee-Thorp, J.A.; Sealy, J.C.; van der Merwe, N.J. (1989): Stable carbon isotope ratio differences between bone collagen and bone apatite, and their relationship to diet. *Journal of Archaeological Science* 16 (6): 585-599.

- Lee-Thorp, J.A.; van der Merwe, N.J. (1991): Aspects of the chemistry of modern and fossil biological apatites. *Journal of Archaeological Science* 18 (3): 343-354.
- Lee-Thorp, J.A.; Sponheimer, M. (2003): Three case studies used to reassess the reliability of fossil bone and enamel isotope signals for paleodietary studies. *Journal of Anthropological Archaeology* 22 (3): 208-216.
- LeGeros, R.Z.; Trautz, O.R.; LeGeros, J.P.; Klein, E.; Shirra, W.P. (1967): Apatite crystallites: Effects of carbonate on morphology. *Science* 155 (3768): 1409-1411.
- LeGeros, R.Z.; Bonel, G.; Legros, R. (1978): Types of "H₂O" in human enamel and precipitated apatites. *Calcified Tissue Research* 26: 111-118.
- Lehmann, G.; Ott, U.; Kaemmerer, D.; Schuetze, J.; Wolf, G. (2008): Bone histomorphometry and biochemical markers of bone turnover in patients with chronic kidney disease Stages 3-5. *Clinical Nephrology* 70 (4): 296-305.
- Lehninger, A.L.; Nelson, D.L.; Cox, M.M. (2004): *Lehninger Principles of biochemistry*. 4th Edition. W.H. Freeman & Company, New York.
- Lennarz, W. J. (1961): The role of isoleucine in the biosynthesis of branched-chain fatty acids by *Micrococcus lysodeikticus*. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 6 (2): 112-116.
- Lesaffre, E.; Speybroeck, N.; Berkvens, D. (2007): Bayes and diagnostic testing. *Veterinary Parasitology* 148 (1): 58-61.
- Li, A.; Punt, P. (2013): Industrial production of organic acids by fungi. State of the art and opportunities. In Gupta, V.K.; Schmoll, M.; Mazutti, M.A.; Mäki, M.; Tuohy, M.G. (Hrsg.): *Applications of microbial engineering*. CRC Press, Boca Raton, London, New York: 52-74.
- Lieberman, D.E. (1997): Making behavioural and phylogenetic inferences from hominid fossils: Considering the developmental influence of mechanical forces. *Annual Review of Anthropology* 26: 185-210.
- Lidén, K. Takahashi, C.; Nelson, D.E. (1995): The effects of lipids in stable isotope analysis and the effects of NaOH treatment on the composition of extracted bone collagen. *Journal of Archaeological Science* 22: 321-326.
- Lihl, C. (2012): *Die mikrostrukturelle Organisation der Knochen des Rehs*. Bachelorarbeit, Fakultät für Biologie, Department I, Anthropologie und Biodiversitätsforschung, Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Lihl, C.; Hoke, N.; Fiderer, C.T.; Heurich, M.; Grupe, G. (2013): The microstructural organization of deer bone (*Capreolus carpeolus*). In: Grupe, G.; McGlynn, G.; Peters, J. (Hrsg.): *Documenta Archaeobiologiae* 11. Beiträge zur Anthropologie und Paläoanatomie. Verlag Marie Leidorf GmbH, Rahden: 153-161.
- Liu, T. Y.; Chang, Y. H. (1971): Hydrolysis of proteins with p-toluenesulfonic acid determination of tryptophan. *Journal of Biological Chemistry* 246 (9): 2842-2848.
- Löffler, G. (2003): *Basiswissen Biochemie, mit Pathobiochemie*. Springer, Heidelberg.
- Lösch, S.; Grupe, G.; Peters, J. (2006): Stable isotopes and dietary adaptations in humans and animals at pre-pottery Neolithic Nevalı Çori, southeast Anatolia. *American Journal of Physical Anthropology* 131 (2): 181-193.
- Loftus, E.; Sealy, J. (2012): Technical note: Interpreting stable carbon isotopes in human tooth enamel: An examination of tissue spacings from South Africa. *American Journal of Physical Anthropology* 147 (3): 499-507.

7. LITERATUR

- Long, J.R.; Dindot, J.L.; Zebroski, H.; Kiihne, S.; Clark, R.H.; Campbell, A.A.; Stayton, P.S.; Drobny, G.P. (1998): A peptide that inhibits hydroxyapatite growth is in an extended conformation on the crystal surface. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95: 2083-2087.
- Longin, R. (1971): New method of collagen extraction for radiocarbon dating. *Nature* 230: 241-242.
- Longinelli, A. (1984): Oxygen isotopes in mammal bone phosphate: A new tool for paleohydrological and paleoclimatological research? *Geochimica et Cosmochimica Acta* 48 (2): 385-390.
- Lowenstam, H.A.; Weiner, S. (1989): *On biomineralization*. Oxford University Press, New York.
- Luz, B.; Kolodny, Y. (1985): Oxygen isotope variations in phosphate of biogenic apatites, IV. Mammal teeth and bones. *Earth and Planetary Science Letters* 75 (1): 29-36.
- Luz, B.; Cormie, A.B.; Schwarcz, H.P. (1990): Oxygen isotope variations in phosphate of deer bones. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 54 (6): 1723-1728.
- Lyman, R.L. (1994): *Vertebrate taphonomy*. Cambridge University Press, Cambridge, New York, Oakleigh, Madrid, Cape Town.
- Macek, B.; Mijakovic, I.; Olsen, J. V.; Gnad, F.; Kumar, C.; Jensen, P. R.; Mann, M. (2007): The serine/ threonine/ tyrosine phosphoproteome of the model bacterium *Bacillus subtilis*. *Molecular and Cellular Proteomics* 6 (4): 697-707.
- Malmberg, P.; Nygren, H. (2008): Methods for the analysis of the composition of bone tissue, with a focus on imaging mass spectrometry (TOF-SIMS). *Proteomics* 8 (18): 3755-3762.
- Manea-Krichten, M.; Patterson, C.; Miller, G.; Settle, D.; Erel, Y. (1991): Comparative increases of lead and barium with age in human tooth enamel, rib and ulna. *Science of the Total Environment* 107: 179-203.
- Mann, R.W.; Bass, W.M.; Meadows, L. (1990): Time since death and decomposition of the human body: variables and observations in case and experimental field studies. *Journal of Forensic Sciences* 35 (1): 103-111.
- Mant, A.K. (1987): Knowledge acquired from post-war exhumations. In: Boddington, A., Garland, A.N., Janaway, R.C. (Hrsg.): *Death, decay and reconstruction*. Manchester University Press, Manchester: 65-78.
- Marchiafava, V.; Bonucci, E.; Ascenzi, A. (1974): Fungal osteoclasia: a model of dead bone resorption. *Calcified Tissue International* 14 (1): 195-210.
- Mariotti, A. (1983): Atmospheric nitrogen is a reliable standard for natural ^{15}N abundance measurements. *Nature* 303: 685-687.
- Martin, C. (2010): Untersuchung des Erhaltungsgrades von Knochenkollagen nach kurzer Liegezeit im Boden (Diageneseforschung) - Bestattungen des 19. und 20. Jahrhunderts vs. modernes Friedhofsmaterial. Bachelorarbeit, Fakultät für Biologie, Department Biologie I, Anthropologie und Biodiversitätsforschung, Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Martin, R.B.; Burr, D.B.; Sharkey, N.A. (1998): *Skeletal tissue mechanics*. Springer, New York.
- Martin, C.; Bentaleb, I.; Kaandorp, R.; Iacumin, P.; Chatri, K. (2008): Intra-tooth study of modern rhinoceros enamel $\delta^{18}\text{O}$: Is the difference between phosphate and carbonate $\delta^{18}\text{O}$ a sound diagenetic test? *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 266 (3): 183-189.
- Marshall, J.D.; Brooks, J.R.; Lajtha, K. (2007): Sources of variation in the stable isotopic composition of plants. In: Michener, R.; Lajtha, K. (Hrsg.): *Stable isotopes in ecology and environmental science*. Blackwell Publishing, Malden, Oxford, Carlton: 22-60.

- Massy, K. (2011): Die Gräber der frühen und mittleren Bronzezeit in der westlichen Münchner Schotterebene unter besonderer Berücksichtigung der frühen Bronzezeit. Magisterarbeit, Fakultät für Kulturwissenschaften, Vor- und Frühgeschichtliche Archäologie und Provinzialrömische Archäologie, Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Masters, P.M. (1987): Preferential preservation of noncollagenous protein during bone diagenesis: Implications for chronometric and stable isotopic measurements. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 51 (12): 3209–3214.
- Matuszewski, S.; Bajerlein, D.; Konwerski, S.; Szpila, K. (2008): An initial study of insect succession and carrion decomposition in various forest habitats of Central Europe. *Forensic Science International* 180 (2-3): 61-69.
- McConnell, D. (1962): Dating of fossil bones by the fluorine method. *Science* 136 (3512): 241-244.
- McCutchen, C.W. (1975): Do mineral crystals stiffen bone by straitjacketing its collagen? *Journal of Theoretical Biology* 51 (1): 51-58.
- McGowan, G.; Prangnell, J. (2006): The significance of vivianite in archaeological settings. *Geoarchaeology: An International Journal* 21 (1): 93–111.
- McKinney, C.R.; McCrea, J.M.; Epstein, S.; Allen, H.A.; Urey, H.C. (1950): Improvements in mass spectrometers for the measurement of small differences in isotope abundance ratios. *Review of Scientific Instruments* 21: 724.
- McNally, E.A.; Schwarcz, H.P.; Botton, G.A.; Arsenault, A.L. (2012): A model for the ultrastructure of bone based on electron microscopy of ion-milled sections. *PLoS ONE* 7(1): e29258.
- McQuinn, B.C. (2011): Impact of embalming and burial on decomposition rates and diffusion of volatile fatty acids in Kentucky. Master's thesis, Department of Geography and Anthropology, Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College.
- Meister, A. (1965): *Biochemistry of the amino acids*. Academic Press, New York, London.
- Mekota, A.-M.; Grupe, G.; Ufer, S.; Cuntz, U. (2006): Serial analysis of stable nitrogen and carbon isotopes in hair: monitoring starvation and recovery phases of patients suffering from anorexia nervosa. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 20 (10): 1604-1610.
- Melis, C.; Teurlings, I.; Linnell, J.D.C.; Andersen, R.; Bordoni, A. (2004): Influence of a deer carcass on Coleopteran diversity in a Scandinavian boreal forest: a preliminary study. *European Journal of Wildlife Research* 50 (3): 146-149.
- Mellen, P. F.; Lowry, M. A.; Micozzi, M. S. (1993): Experimental observations on adipocere formation. *Journal of Forensic Sciences* 38 (1): 91-93.
- Metcalf, J.L.; Wegener Parfrey, L.; Gonzales, A.; Lauber, C.L.; Knights, D.; Ackerman, G.; Humphrey, G.C.; Gebert, M.J.; van Treuren, W.; Berg-Lyons, D.; Keepers, K.; Guo, Y.; Bullard, J.; Fierer, N.; Carter, D.O.; Knight, R. (2013): A microbial clock provides an accurate estimate of the postmortem interval in a mouse model system. *eLife*: doi: 10.7554/eLife.01104.
- Metcalf, J.Z.; Longstaffe, F.J.; White, C.D. (2009): Method-dependent variations in stable isotope results for structural carbonate in bone bioapatite. *Journal of Archaeological Science* 36 (1): 110-121.
- Michel, V.; Ildefonse, P.; Morin, G. (1996): Assessment of archaeological bone and dentine preservation from Lazaret Cave (Middle Pleistocene) in France. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 126 (1-2): 109–119.
- Millard, A. (2001): The deterioration of bone. In Brothwell D.R.; Pollard A.M. (Hrsg.): *Handbook of Archaeological Sciences*. Jon Wiley & Sons, Chichester, New York, Weinheim: 637-645.

7. LITERATUR

- Millard, A.R.; Hedges, R.E.M. (1995): The role of the environment in uranium uptake by buried bone. *Journal of Archaeological Science* 22 (2): 239-250.
- Miller, E. L.; Hartley, A. W.; Thomas, D. C. (1965): Availability of sulphur amino acids in protein foods. 4. Effect of heat treatment upon the total amino acid content of cod muscle. *The British Journal of Nutrition* 19 (4): 565.
- Miller, E.J.; Gay, S. (1982): Collagen: An overview. *Methods in Enzymology* 82. Structural and Contractile Proteins Part A: Extracellular Matrix: 3-32.
- Miller, L.M.; Vairavamurthy, V.; Chance, M.R.; Mendelsohn, R.; Paschalis, E.P.; Betts, F.; Boskey, A.L. (2001): *In situ* analysis of mineral content and crystallinity in bone using infrared micro-spectroscopy of the ν_4 PO_4^{3-} vibration. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects* 1527 (1-2): 11-19.
- Minagawa, M.; Wada, E. (1984): Stepwise enrichment of ^{15}N along food chains: Further evidence and the relation between $\delta^{15}\text{N}$ and animal age. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 48 (5): 1135-1140.
- Mininni, G.; Sbrilli, A.; Braguglie, C.M.; Guerriero, E.; Marani, D.; Rotatori, M. (2007): Dioxins, furans and polycyclic aromatic hydrocarbons emissions from a hospital and cemetery waste incinerator. *Atmospheric Environment* 41 (38): 8527-8536.
- Misra, D.N. (1984): Adsorption of N,N-dimethyl-p-aminophenyl acetic acid on hydroxyapatite. In Misra, D.N. (Hrsg.): *Adsorption on and Surface Chemistry of Hydroxyapatite*, New York, Plenum Publishing Corporation: 105-114.
- Molleson, T.I.; Williams, C.T.; Cressy, G.; Din, V.K. (1998): Radiographically opaque bones from lead-lined coffins at Christ Church, Spitalfields, London; an extreme example of bone diagenesis. *Bulletin de la Société Géologique de France* 169 (3): 425-432.
- Monge, G.; Carretero, M.I.; Pozo, M.; Barroso, C. (2014): Mineralogical changes in fossil bone from Cueva del Angel, Spain: archaeological implications and occurrence of whitlockite. *Journal of Archaeological Science* 46: 6-15.
- Monnier, V.M.; Kohn, R.R.; Cerami, A. (1984): Accelerated age-related browning of human collagen in diabetes mellitus. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 81 (2): 583-587.
- Montoya, J.P. (2007): Natural abundance of ^{15}N in marine planktonic ecosystems. In Michener, R.; Lajtha, K. (Hrsg.): *Stable isotopes in ecology and environmental science*. Blackwell Publishing, Malden, Oxford, Carlton: 176-201.
- Morris, M. D.; Mandair, G. S. (2011): Raman assessment of bone quality. *Clinical Orthopaedics and Related Research* 469 (8): 2160-2169.
- Munro, L. E.; Longstaffe, F. J.; White, C. D. (2007): Burning and boiling of modern deer bone: effects on crystallinity and oxygen isotope composition of bioapatite phosphate. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 249 (1): 90-102.
- Munsell Soil Color Charts (2009), Munsell Color, Grand Rapids, MI.
- Muyzer, G.; Stams, A.J.M. (2008): The ecology and biotechnology of sulphate-reducing bacteria. *Nature Reviews Microbiology* 6: 441-454.
- Nakamura, K.; Schoeller, D. A.; Winkler, F. J.; Schmidt, H. L. (1982): Geographical variations in the carbon isotope composition of the diet and hair in contemporary man. *Biological Mass Spectrometry* 9 (9): 390-394.
- Neer, R. M.; Arnaud, C. D.; Zanchetta, J. R.; Prince, R.; Gaich, G. A.; Reginster, J. Y.; Hodsman, A.B.; Eriksen, E.F.; Ish-Shalom, S.; Genant, H.K.; Wang, O.; Mellström, D.; Oefjord, E.S.; Marciniowska-Suchowierska, E.; Salmi, J.; Mulder, H.; Halse, J.; Sawicki, A.Z.; Mitlak, B.H. (2001): Effect of parathyroid hormone (1-34) on fractures and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. *New England Journal of Medicine* 344 (19): 1434-1441.

- Neuberger, F.M.; Jopp, E.; Graw, M.; Püschel, K.; Grupe, G. (2013): Signs of malnutrition and starvation-Reconstruction of nutritional life histories by serial isotopic analyses of hair. *Forensic Science International* 226 (1-3): 22-32.
- Neumann, W. (1994): Vom Totenbaum zum Designersarg: zur Kulturgeschichte des Sarges von der Antike bis zur Gegenwart. Museum für Sepulkralkultur Kassel, Arbeitsgemeinschaft Friedhof und Denkmal.
- Neumann, M. (2008): Synthese und Charakterisierung von Calciumcarbonat-Phasen und Calciumphosphat-basierter Knochenersatzmaterialien. Dissertation, Institut für Anorganische Chemie, Universität Duisburg-Essen.
- Newesely, H. (1989): Fossil bone apatite. *Applied Geochemistry* 4 (3): 233-245.
- Nicholson, R.A. (1998): Bone degradation in a compost heap. *Journal of Archaeological Science* 25 (5): 393-403.
- Nielsen-Marsh, C. M.; Hedges, R. E. (1997): Dissolution experiments on modern and diagenetically altered bone and the effect on the infrared splitting factor. *Bulletin de la Société Géologique de France* 168 (4): 485-490.
- Nielsen-Marsh, C.M.; Hedges, R.E.M. (1999): Bone porosity and the use of mercury intrusion porosimetry in bone diagenesis studies. *Archaeometry* 41 (1): 165-174.
- Nielsen-Marsh, C.M.; Hedges, R.E.M. (2000a): Patterns of diagenesis in bone I: The effects of site environments. *Journal of Archaeological Science* 27 (12): 1139-1150.
- Nielsen-Marsh, C. M.; Hedges, R. E. (2000b): Patterns of diagenesis in bone II: effects of acetic acid treatment and the removal of diagenetic CO_3^{2-} . *Journal of Archaeological Science* 27 (12): 1151-1159.
- Nielsen-Marsh, C.M.; Gernaey, A.; Turner-Walker, G.; Hedges, R.; Pike, A.; Collins, M. (2000): The chemical degradation of bone. In Cox, M.; Mays, S. (Hrsg.): *Human Osteology in Archaeology and Forensic Science*. Cambridge University Press, Cambridge, New York, Melbourne, Madrid, Cape Town, Singapore, São Paulo: 439-453.
- Nielsen-Marsh, C.M.; Smith, C.I.; Jans, M.M.E.; Nord, A.; Kars, H.; Collins, M.J. (2007): Bone diagenesis in the European Holocene II: taphonomic and environmental considerations. *Journal of Archaeological Science* 34 (9): 1523-1531.
- Nomoto, M.; Narahashi, Y.; Murakami, M. (1960): A proteolytic enzyme of *Streptomyces griseus* VII. Substrate specificity of *Streptomyces griseus* protease. *The Journal of Biochemistry* 48 (6): 906-918.
- O'Leary, M.H. (1988): Carbon isotopes in photosynthesis. *BioScience* 38 (5): 328-336.
- Ortner, D.J.; Putschar, W.G.J. (1981): Identification of pathological conditions in human skeletal remains. *Smithsonian Contributions to Anthropology* 48. Smithsonian Institution Press, Washington D.C..
- Pan, Y.; Fleet, M.E. (2002): Compositions of the apatite-group minerals: Substitution mechanisms and controlling factors. In Kohn, M.J.; Rakovan, J.; Hughes, J.M. (Hrsg.): *Phosphates: Geochemical, Geological and Material Importance. Reviews in Mineralogy and Geochemistry* 48, Mineralogical Society of America, Washington D.C.: 13-50.
- Paredes, C.J.; Alsaker, K.V.; Papoutsakis, E.T. (2005): A comparative genomic view of clostridial sporulation and physiology. *Nature Reviews Microbiology* 3: 969-978.
- Parikh, R.; Mathai, A.; Parikh, S.; Sekhar, G.C.; Thomas, R. (2008): Understanding and using sensitivity, specificity and predictive values. *Indian Journal of Ophthalmology* 56 (1): 45-50.
- Parikh, R.; Parikh, S.; Arun, E.; Thomas, R. (2009): Likelihood ratios: Clinical application in day-to-day practice. *Indian Journal of Ophthalmology* 57 (3): 217-221.

7. LITERATUR

- Paschalis, E.P.; DiCarlo, E.; Betts, F.; Sherman, P.; Mendelsohn, R.; Boskey, A.L. (1996): FTIR microspectroscopic analysis of human osteonal bone. *Calcified Tissue International* 59 (6): 480-487.
- Paschalis, E.P.; Recker, R.; DiCarlo, E.; Doty, S.B.; Atti, E.; Boskey, A.L. (2003): Distribution of collagen cross-links in normal human trabecular bone. *Journal of Bone and Mineral Research* 18 (11): 1942-1946.
- Paschalis, E.P.; Shane, E.; Lyritis, G.; Skarantavos, G.; Mendelsohn, R.; Boskey, A.L. (2004): Bone fragility and collagen cross-links. *Journal of Bone and Mineral Research* 19 (12): 2000-2004.
- Pasteris, J.D.; Wopenka, B.; Freeman, J.J.; Rogers, K.; Valsami-Jones, E.; van der Houwen, J.A.M.; Silva, M.J. (2004): Lack of OH in nanocrystalline apatite as a function of degree of atomic order: implications for bone and biomaterials. *Biomaterials* 25 (2): 229-238.
- Pasteris, J.D.; Yoder, C.H.; Sternlieb, M.P.; Liu, S. (2012): Effect of carbonate incorporation on the hydroxyl content of hydroxyapatite. *Mineralogical Magazine* 72: 2741-2759.
- Pasteris, J.D.; Yoder, C.H.; Wopenka, B. (2014): Molecular water in nominally unhydrated carbonated hydroxylapatite: The key to a better understanding of bone mineral. *American Mineralogist* 99: 16-27.
- Pate, F.D.; Hutton, J.D. (1988): The use of soil chemistry data to address post-mortem diagenesis in bone mineral. *Journal of Archaeological Science* 15 (6): 729-739.
- Patonai, Z.; Maasz, G.; Avar, P.; Schmidt, J.; Lorand, T.; Bajnoczky, I.; Mark, L. (2012): Novel dating method to distinguish between forensic and archeological human skeletal remains by bone mineralization indexes. *International Journal of Legal Medicine* 127 (2): 529-533.
- Payne, J.A. (1965): A summer carrion study of the baby pig *Sus scrofa* Linnaeus. *Ecology* 46 (5): 592-602.
- Pellegrini, M.; Lee-Thorp, J. A.; Donahue, R. E. (2011): Exploring the variation of the $\delta^{18}\text{O}_\text{p}$ and $\delta^{18}\text{O}_\text{c}$ relationship in enamel increments. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 310 (1): 71-83.
- Pellegrini, M. (2013): Bioapatite carbonate pre-treatments for isotopic measurements: a never-ending story? Vortrag, 7th International Bone Diagenesis Meeting, Lyon, Frankreich, 22.-25. Oktober.
- Penel, G.; Leroy, G.; Rey, C.; Bres, E. (1998): MicroRaman spectral study of the PO_4 and CO_3 vibrational modes in synthetic and biological apatites. *Calcified Tissue International* 63 (6): 475-481.
- Person, A.; Bocherens, H.; Saliège, J.-F.; Paris, F.; Zeitoun, V. (1995): Early diagenetic evolution of bone phosphate: An X-ray diffractometry analysis. *Journal of Archaeological Science* 22 (2): 211-221.
- Person, A.; Bocherens, H.; Mariotti, A.; Renard, M. (1996): Diagenetic evolution and experimental heating of bone phosphate. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 126 (1-2): 135-149.
- Peterson, B.J.; Fry, B. (1987): Stable isotopes in ecosystem studies. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18: 293-320.
- Petzke, K. J.; Boeing, H.; Klaus, S.; Metges, C. C. (2005): Carbon and nitrogen stable isotopic composition of hair protein and amino acids can be used as biomarkers for animal-derived dietary protein intake in humans. *The Journal of Nutrition* 135 (6): 1515-1520.
- Pfeiffer, S.; Milne, S.; Stevenson, R.M. (1998): The natural decomposition of adipocere. *Journal of Forensic Sciences* 43 (2): 368-370.
- Pfeiffer, S.; Varney, T.L. (2000): Quantifying histological and chemical preservation in archaeological bone. In Ambrose, S.H.; Katzenberg, M.A. (Hrsg.): *Biogeochemical Approaches to Paleodietary Analysis*,

- Advances in Archaeological & Museum Science. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York: 141–158.
- Pfretzschner, H. U. (2000): Microcracks and fossilization of Haversian bone. *Neues Jahrbuch für Geologie und Paläontologie-Abhandlungen* 216 (3): 413–432.
- Piccoli, P.M.; Candela, P.A. (2002): Apatite in igneous systems. In Kohn, M.J.; Rakovan, J.; Hughes, J.M. (Hrsg.): *Phosphates: Geochemical, Geobiological and Material Importance. Reviews in Mineralogy and Geochemistry* 48, Mineralogical Society of America, Washington D.C.: 255–292.
- Piepenbrink, H. (1989): Examples of chemical changes during fossilization. *Applied Geochemistry* 4: 273–280.
- Pinheiro, J. (2006): Decay process of a cadaver. In Schmitt, A.; Cunha, E.; Pinheiro, J. (Hrsg.): *Forensic Anthropology and Medicine. Complementary sciences from recovery to cause of death*. Humana Press, Totowa, New Jersey: 85–116.
- Plötz, T. (2011): Identifikation von mittelalterlichem Adel aus der Oberpfalz: Möglichkeiten molekularbiologischer, archäometrischer und anthropologischer Analysen. Diplomarbeit, Fakultät für Biologie, Institut für Anthropologie und Humangenetik, Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Pollard, A.M.; Wilson, L. (2001): Global biogeochemical cycles and isotope systematics – how the world works. In Brothwell, D.R.; Pollard, A.M. (Hrsg.): *Handbook of Archaeological Sciences*. Jon Wiley & Sons, Chichester, New York, Weinheim: 191–201.
- Popoff, M.R.; Stiles, B.G. (2005): Clostridial toxins vs. other bacterial toxins. In Dürre, P. (Hrsg.): *Handbook on Clostridia*. Taylor & Francis, Boca Raton, London, New York, Singapur: 323–384.
- Posner, A.S. (1985): The structure of bone apatite surfaces. *Journal of Biomedical Materials Research* 19 (3): 241–250.
- Posner, A.S.; Harper, R.A.; Muller, S.A.; Menczel, J. (1965): Age changes in the crystal chemistry of bone apatite. *Annals of the New York Academy of Sciences* 131: 737–742.
- Prangnell, J.; McGowan, G. (2009): Soil temperature calculation for burial site analysis. *Forensic Science International* 191 (1–3): 104–109.
- Pucéat, E.; Reynard, B.; Lécuyer, C. (2004): Can crystallinity be used to determine the degree of chemical alteration of biogenic apatites? *Chemical Geology* 205 (1–2): 83–97.
- Pucéat, E.; Joachimski, M.M.; Bouilloux, A.; Monna, F.; Bonin, A.; Motreuil, S.; Morinière, P.; Hénard, S.; Mourin, J.; Dera, G.; Quesne, D. (2010): Revised phosphate–water fractionation equation reassessing paleotemperatures derived from biogenic apatite. *Earth and Planetary Science Letters* 298 (1–2): 135–142.
- Punnett, T.; Derrenbacker, E. C. (1966): The amino acid composition of algal cell walls. *Journal of General Microbiology* 44 (1): 105–114.
- Rajmohan, S.; Dodd, C.E.R.; Waites, W.M. (2002): Enzymes from isolates of *Pseudomonas fluorescens* involved in food spoilage. *Journal of Applied Microbiology* 93 (2): 205–213.
- Ratke, L.; Voorhees, P.W. (2002): Growth and Coarsening. *Ostwald Ripening in Materials Processing*. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, Barcelona, Hongkong, London, Milan, Paris, Tokyo.
- Razali, N.M.; Wah, Y.B. (2011): Power comparisons of Shapiro-Wilk, Kolmogorov-Smirnov, Lilliefors and Anderson-Darling tests. *Journal of Statistical Modeling and Analytics* 2 (1): 21–33.
- Reckel, F.; Hoke, N.; Heurich, M.; Grunwald, J.-E. (2012): Piophilid maggots found inside of bones. 9th Meeting of the European Association for Forensic Entomology, Torun, Polen, 18. – 21. April 2012.

7. LITERATUR

- Rebourg, C.; Chastanet, M.; Gouesnard, B.; Welcker, C.; Dubreuil, P.; Charcosset, A. (2003): Maize introduction into Europe: the history reviewed in the light of molecular data. *Theoretical and Applied Genetics* 106 (5): 895-903.
- Reed, S.J.B. (2010): *Electron microprobe analysis and scanning electron microscopy in geology*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Reiche, I.; Favre-Quattropani, L.; Calligaro, T.; Salomon, J.; Bocherens, H.; Charlet, L.; Menu, M. (1999): Trace element composition of archaeological bones and post-mortem alteration in the burial environment. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms* 150 (1-4): 656-662.
- Reiche, I.; Vignaud, C.; Menu, M. (2000): Heat induced transformation of fossil mastodon ivory into turquoise 'odontolote'. *Structural and elemental characterization*. *Solid State Sciences* 2(6): 625-636.
- Reiche, I.; Favre-Quattropani, L.; Vignaud, C.; Bocherens, H.; Charlet, L.; Menu, M. (2003): A multi-analytical study of bone diagenesis: the Neolithic site of Bercy (Paris, France). *Measurement Science and Technology* 14 (9): 1608-1619.
- Reiser, K.; McCormick, R.J.; Rucker, R.B. (1992): Enzymatic and nonenzymatic cross-linking of collagen and elastin. *The FASEB Journal* 6: 2439-2449.
- Reitsema, L. J. (2013): Beyond diet reconstruction: stable isotope applications to human physiology, health, and nutrition. *American Journal of Human Biology* 25 (4): 445-456.
- Rey, C. (1990): Calcium phosphate biomaterials and bone mineral. Differences in composition, structures and properties. *Biomaterials* 11: 13-15.
- Rey, C.; Renugopalakrishnan, V.; Collins, B.; Glimcher, M. J. (1991): Fourier transform infrared spectroscopic study of the carbonate ions in bone mineral during aging. *Calcified Tissue International* 49 (4): 251-258.
- Rey, C.; Miquel, J.L.; Facchini, L.; Legrand, A.P.; Glimcher, M.J. (1995): Hydroxyl groups in bone mineral. *Bone* 16 (5): 583-586.
- Rey, C.; Combes, C.; Drouet, C.; Sfihi, H.; Barroug, A. (2007): Physico-chemical properties of nanocrystalline apatites: implications for biominerals and biomaterials. *Materials Science and Engineering: C* 27 (2): 198-205.
- Rey, C.; Combes, C.; Drouet, C.; Glimcher, M.J. (2009): Bone mineral. Update on chemical composition and structure. *Osteoporosis International* 20 (6): 1013-1021.
- Richards, M.P.; Mays, S.; Fuller, B.T. (2002): Stable carbon and nitrogen isotope values of bone and teeth reflect weaning age at the Medieval Wharram Percy site, Yorkshire, UK. *American Journal of Physical Anthropology* 119 (3): 205-210.
- Robbiola, L.; Blengino, J.-M.; Fiaud, C. (1998): Morphology and mechanisms of formation of natural patinas on archaeological Cu-Sn alloys. *Corrosion Science* 40 (12): 2083-2111.
- Roberts, S.J.; Smith, C.I.; Millard, A.; Collins, M.J. (2002): The taphonomy of cooked bone. Characterizing boiling and its physio-chemical effects. *Archaeometry* 44: 485-494.
- Robling, A.G.; Stout, S.D. (2000): Histomorphometry of human cortical bone: Applications to age estimation. In Katzenberg, M.A.; Saunders, S.R. (Hrsg.): *Biological anthropology of the human skeleton*. Wiley-Liss, New York: 187-214.
- Robins, S.P.; Duncan, A. (1983): Cross-linking of collagen. Location of pyridinoline in bovine articular cartilage at two sites of the molecule. *Biochemical Journal* 215: 175-182.

- Rodriguez, W.C. (1997): Decomposition of buried and submerged bodies. Haglund, W.D.; Sorg, M.H. (Hrsg.): *Forensic Taphonomy: The Postmortem Fate of Human Remains*. CRC Press Inc., Boca Raton, London, New York, Washington DC: 459-468.
- Rodriguez, W.C.; Bass, W.M. (1985): Decomposition of buried bodies and methods that may aid in their location. *Journal of Forensic Sciences* 30 (3): 836-852.
- Rodriguez-Blanco, J. D.; Shaw, S.; Benning, L. G. (2011): The kinetics and mechanisms of amorphous calcium carbonate (ACC) crystallization to calcite, via vaterite. *Nanoscale* 3 (1): 265-271.
- Rogers, K.D.; Zioupos, P. (1999): The bone tissue of the rostrum of a *Mesoplodon densirostris* whale: a mammalian biomineral demonstrating extreme texture. *Journal of Materials Sciences Letters* 18 (8): 651-654.
- Ross, A.H.; Cunningham, S.L. (2011): Time-since-death and bone weathering in a tropical environment. *Forensic Science International* 204 (1-3): 126-133.
- Rybczynski, N.; Gosse, J.C.; Harington, C.R.; Wogelius, R.A.; Hidy, A.J.; Buckley, M. (2013): Mid-Pleistocene warm-period deposits in the High Arctic yield insight into camel evolution. *Nature Communications* 4: 1-9
- Saber, W. I. A.; El-Metwally, M.M.; El-Hersh, M.S. (2010): Keratinase production and biodegradation of some keratinous wastes by *Alternaria tenuissima* and *Aspergillus nidulans*. *Research Journal of Microbiology* 5 (1): 21-35.
- Safadi, F.F.; Barbe, M.F.; Abdelmagid, S.M.; Rico, M.C.; Aswad, R.A.; Litvin, J.; Popoff, S.N. (2009): Bone structure, development and bone biology. In Khurana, J.S. (Hrsg.): *Bone Pathology*. 2nd Edition. Humana Press, New York: 1-50.
- Saito, M.; Marumo, K. (2010): Collagen cross-links as a determinant of bone quality: a possible explanation for bone fragility in aging, osteoporosis, and diabetes mellitus. *Osteoporosis International* 21 (2): 195-214.
- Saito, M.; Marumo, K. (2013): Bone quality in diabetes. *Frontiers in Endocrinology* 4: 72, 1-9.
- Santarsiero, A.; Minelli, L.; Cutilli, D.; Cappiello, G. (2000): Hygienic aspects related to burial. *Microchemical Journal* 67 (1-3): 135-139.
- Schadewaldt, H. (1975): Die Geschichte des Diabetes mellitus. In Oberdisse, K. (Hrsg.): *Diabetes mellitus A*. Springer, Berlin, Heidelberg, New York: 1-44.
- Schiegl, S.; Goldberg, P.; Pfretzschner, H.-U.; Conard, N.J. (2003): Paleolithic burnt bone horizons from the Swabian Jura: Distinguishing between *in situ* fireplaces and dumping areas. *Geoarchaeology* 18 (5): 541-565.
- Schleifer, K. H.; Kandler, O. (1972): Peptidoglycan types of bacterial cell walls and their taxonomic implications. *Bacteriological Reviews* 36 (4): 407.
- Schoeneberger, P.J.; Wysocki, D.A.; Benham, E.C.; Broderson, W.D. (2002): *Field book for describing and sampling soils*. Natural Resources Conservation Service, National Soil Survey Center, Lincoln.
- Schoenen, D.; Schoenen, H. (2013): Adipocere formation—The result of insufficient microbial degradation. *Forensic Science International* 226 (1-6): 301.e1-301.e6.
- Schoeninger, M.J.; Moore, K.M.; Murray, M.L.; Kingston, J.D. (1989): Detection of bone preservation in archaeological and fossil samples. *Applied Geochemistry* 4 (3): 281-292.
- Schürch, M.; Kozel, R.; Schotterer, U.; Tripet, J.-P. (2003): Observation of isotopes in the water cycle - the Swiss National Network (NISOT). *Environmental Geology* 45 (1): 1-11.

7. LITERATUR

- Schulze, D.G.; Nagel, J.L.; van Scoyoc, G.E.; Henderson, T.L.; Baumgardner, M.F.; Stott, D.E. (1993): Significance of Organic Matter in Determining Soil Colors. In Bingham, J.M.; Ciolkosz, E.J. (Hrsg.): Soil Color. Proceedings of a symposium sponsored by Divisions S-5 and S-9 of the Soil Science Society of America in San Antonio, Texas, 21-26 Oct. 1990: 71-91.
- Schultz, M. (1997): Microscopic structure of bone. In Haglund, W.D.; Sorg, M.H. (Hrsg.): Forensic Taphonomy: The Postmortem Fate of Human Remains. CRC Press Inc., Boca Raton, London, New York, Washington DC: 187-199.
- Schultz, M. (2001): Paleohistopathology of bone: A new approach to the study of ancient diseases. American Journal of Physical Anthropology 116 (S3): 106-147.
- Schurr, M.R. (1998): Using stable nitrogen-isotopes to study weaning behavior in past populations. World Archaeology 30 (2): 327-342.
- Schweitzer, M.H. (2004): Molecular paleontology: some current advances and problems. Annales de Paléontologie 90 (2): 81-102.
- Scott, D. A. (2002): Copper and bronze in art: corrosion, colorants, conservation. Getty Publications, Los Angeles.
- Sealy, J. (2001): Body tissue chemistry and palaeodiet. In Brothwell, D.R.; Pollard, A.M. (Hrsg.): Handbook of Archaeological Science. John Wiley & Sons, Chichester, New York, Weinheim: 269-279.
- Seidel, R.; Gourrier, A.; Kerschnitzki, M.; Burghammer, M.; Fratzl, P.; Gupta, H.S.; Wagermaier, W. (2012): Synchrotron 3D SAXS analysis of bone nanostructure. Bioinspired, Biomimetic and Nanobio-materials 1 (2): 123-131.
- Seifert, L.; Harbeck, M.; Thomas, A.; Hoke, N.; Zöller, L.; Wiechmann, I.; Grupe, G.; Scholz, H.; Riehm, J. (2013): Strategy for sensitive and specific detection of *Yersinia pestis* in skeletons of the Black Death pandemic. PLoS ONE 8 (9).
- Sell, D. R.; Monnier, V. M. (2004): Conversion of arginine into ornithine by advanced glycation in senescent human collagen and lens crystallins. Journal of Biological Chemistry 279 (52): 54173-54184.
- Shemesh, A. (1990): Crystallinity and diagenesis of sedimentary apatites. Geochimica et Cosmochimica Acta 54 (9): 2433-2438.
- Shevchenko, S.M.; Bailey, G.W. (1996): Life after death: Lignin-humic relationships reexamined. Critical Reviews in Environmental Science and Technology 26 (2): 95-153.
- Shin, J.Y.; Hedges, R.E.M. (2012): Diagenesis in bone and enamel apatite carbonate; the potential of density separation to assess the original composition. Journal of Archaeological Science 39 (4): 1123-1130.
- Shinomiya, T.; Shinomiya, K.; Orimoto, C.; Minami, T.; Tohno, Y.; Yamada, M. (1998): In- and out-flows of elements in bones embedded in reference soils. Forensic Science International 98 (1-2): 109-118.
- Sidrim, J.J.C.; Moreira Filho, R.E.; Cordeiro, R.A.; Rocha, M.F.G.; Caetano, E.P. (2009): Fungal microbiota dynamics as a postmortem investigation tool: focus in *Aspergillus*, *Penicillium* and *Candida* species. Journal of Applied Microbiology 108 (5): 1751-1756.
- Sillen, A. (1989): Diagenesis of the inorganic phase of cortical bone. In Price, D.T. (Hrsg.): The chemistry of prehistoric human bone. Cambridge University Press, Cambridge, New York, Melbourne: 211-229.
- Sillen, A.; Parkington, J. (1996): Diagenesis of bones from Eland's Bay cave. Journal of Archaeological Science 23 (4): 535-542.
- Silver, S.; Phung, L.T. (2005): A bacterial view of the periodic table: genes and proteins for toxic inorganic ions. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology 32 (11): 587-605.

- Skinner, H.C.W. (2005): Biominerals. *Mineralogical Magazine* 69 (5): 621-641.
- Skujins, J.J.; McLaren, A.D. (1967): Enzyme Reaction Rates at Limited Water Activities. *Science* 158 (3808): 1569-1570.
- Smith, K.G.V. (1986): A manual of forensic entomology. British Museum of Natural History and Cornell University Press, Ithaca, New York.
- Smith, E. C.; Griffiths, H. (1996): A pyrenoid-based carbon-concentrating mechanism is present in terrestrial bryophytes of the class Anthocerotae. *Planta* 200 (2): 203-212.
- Smith, G.D.; Clark, R.J.H. (2004): Raman microscopy in archaeological science. *Journal of Archaeological Science* 31 (8): 1137-1160.
- Smith, C.I.; Nielsen-Marsh, C.M.; Jans, M.M.E.; Collins, M.J. (2007): Bone diagenesis in the European Holocene I: patterns and mechanisms. *Journal of Archaeological Science* 34 (9): 1485-1493.
- Sontheim, E. (2003): Ausgrabung am St. Mang-Platz - Grabungsbericht. *Der Altstadtbrief* 30; Freunde der Altstadt Kempten e.V.: 10-13.
- Spackman, D.H.; Stein, W.H.; Moore, S. (1958): Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids. *Analytical Chemistry* 30 (7): 1190-1206.
- Spiesz, E.M.; Roschger, P.; Zysset, K.K. (2012): Influence of mineralization and microporosity on tissue elasticity: Experimental and numerical investigation on mineralized turkey leg tendons. *Calcified Tissue International* 90 (4): 319-329.
- Spongberg, A.L.; Becks, P.M. (2000): Organic contamination in soils associated with cemeteries. *Journal of Soil Contamination* 9 (2): 87-97.
- Sponheimer, M.; Lee-Thorp, J.A. (1999): Oxygen isotopes in enamel carbonate and their ecological significance. *Journal of Archaeological Science* 26 (6): 723-728.
- Sponheimer, M.; Robinson, T.; Ayliffe, L.; Roeder, B.; Hammer, J.; Passey, B.; West, A.; Cerling, T.; Dearing, D.; Ehleringer, J. (2003): Nitrogen isotopes in mammalian herbivores: hair $\delta^{15}\text{N}$ values from a controlled feeding study. *International Journal of Osteoarchaeology*, 13 (1-2): 80-87.
- Sroga, G.E.; Siddula, A.; Vashishth, D. (2015): Glycation of human cortical and cancellous bone captures differences in the formation of Maillard reaction products between glucose and ribose. *PLoS ONE* 10(2): e0117240. doi:10.1371/journal.pone.0117240.
- Stafford, T.W.; Brendel, K.; Duhamel, R. (1988): Radiocarbon, ^{13}C and ^{15}N analysis of fossil bone: Removal of humates with XAD-2 resin. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 52 (9): 2257-2267.
- Steele, K.W.; Daniel, R.M. (1978): Fractionation of nitrogen isotopes by animals: a further complication to the use of variations in the natural abundance of ^{15}N for tracer studies. *The Journal of Agricultural Science* 90 (1): 7-9.
- Stiner, M.C.; Kuhn, S.L.; Weiner, S.; Bar-Yosef, O. (1995): Differential burning, recrystallization, and fragmentation of archaeological bone. *Journal of Archaeological Science* 22 (2): 223-237.
- Strawn, D.G.; Bohn, H.L.; O'Connor, G.A. (2015): Soil chemistry. John Wiley & Sons, Chichester.
- Stuart, B. (2004): Infrared spectroscopy: Fundamentals and applications. John Wiley & Sons, Chichester.
- Sugita, R.; Marumo, Y. (1996): Validity of color examination for forensic soil identification. *Forensic Science International* 83 (3): 201-210.
- Sukhosyrova, E.A.; Nikitina, Z.K.; Yakovleva, M.B.; Veshchikova, E.V.; Bykov, V.A. (2003): Characteristics of collagenolytic enzymes secreted by deuteromycete fungi *Aspergillus flavus*. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 135 (5): 447-451.

7. LITERATUR

- Sulzman, E.W. (2007): Stable isotope chemistry and measurement: a primer. In Michener, R.; Lajtha, K. (Hrsg.): Stable isotopes in ecology and environmental science. Blackwell Publishing, Malden, Oxford, Carlton: 1-21.
- Surovell, T.A.; Stiner, M.C. (2001): Standardizing infra-red measures of bone mineral crystallinity: an experimental approach. *Journal of Archaeological Science* 28 (6): 633-642.
- Sutherland, R.; Boon, R. J.; Griffin, K. E.; Masters, P. J.; Slocombe, B.; White, A. R. (1985): Antibacterial activity of mupirocin (pseudomonic acid), a new antibiotic for topical use. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 27 (4): 495-498.
- Sutton, R.; Sposito, G. (2005): Molecular structure in soil humic substances: The new view. *Environmental Science and Technology* 39 (23): 9009-9015.
- Swift, M.J.; Heal, O.W.; Anderson, J.M. (1979): Decomposition in terrestrial ecosystems. *Studies in Ecology* 5. University of California Press, Berkeley, Los Angeles.
- Swift, B.; Lauder, I.; Black, S.; Norris, J. (2001): An estimation of the post-mortem interval in human skeletal remains: a radionuclide and trace element approach. *Forensic Science International* 117: 73-87.
- Takasaki, K.; Shoun, H.; Nakamura, A.; Hoshino, T.; Takaya, N. (2004): Unusual transcription regulation of the *niaD* gene under anaerobic conditions supporting fungal ammonia fermentation. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 68 (4): 978-980.
- Takatori, T. (1996): Investigations on the mechanism of adipocere formation and its relation to other biochemical reactions. *Forensic Science International* 80 (1-2): 49-61.
- Tappen, M. (1994): Bone weathering in the tropical rain forest. *Journal of Archaeological Science* 21 (5): 667-673.
- Taubitz, A.; Bauer, B.; Heesemann, J.; Ebel, F. (2007): Role of respiration in the germination process of the pathogenic mold *Aspergillus fumigatus*. *Current Microbiology* 54 (5): 354-360.
- Taylor, R. E.; Ennis, P. J.; Slota, P.; Payen, L. A. (1989): Non-age-related variations in aspartic acid racemization in bone from a radiocarbon-dated late Holocene archaeological site. *Radiocarbon* 31(3): 1048-1056.
- Taylor, R.E.; Hare, P.E.; White, T.D. (1995): Geochemical criteria for thermal alteration of bone. *Journal of Archaeological Science* 22: 115-119.
- Thomas, D.B.; Fordyce, R.E.; Frew, R.D.; Gordon, K.C. (2007): A rapid, non-destructive method of detecting diagenetic alteration in fossil bone using Raman spectroscopy. *Journal of Raman Spectroscopy* 38 (12): 1533-1537.
- Thorpe, S. R.; Baynes, J. W. (2003): Maillard reaction products in tissue proteins: new products and new perspectives. *Amino Acids* 25 (3-4): 275-281.
- Thurman, R.B.; Gerba, C.P.; Bitton, G. (1989): The molecular mechanisms of copper and silver ion disinfection of bacteria and viruses. *Critical Reviews in Environmental Control* 18 (4): 295-315.
- Tieszen, L.L.; Fagre, T. (1993): Effect of diet quality and composition on the isotopic composition of respiratory CO₂, bone collagen, bioapatite, and soft tissues. In Lambert, J.B.; Grupe, G. (Hrsg.): Prehistoric human bone – Archaeology at the molecular level. Springer, Berlin, Heidelberg: 121-155.
- Torres, M.E.; Bohrmann, G.; Dubé, T.E.; Poole, F.G (2003): Formation of modern and Paleozoic stratiform barite at cold methane seeps on continental margins. *Geology* 31 (10): 897-900.
- Towne, E.G. (2000): Prairie vegetation and soil nutrient responses to ungulate carcasses. *Oecologia* 122 (2): 232-239.
- Trueman, C.N. (2013): Chemical taphonomy of biomineralized tissues. *Palaeontology* 56 (3): 475-486.

- Trueman, C.N.; Martill, D.M. (2002): The long-term survival of bone: the role of bioerosion. *Archaeometry* 44 (3): 371-382.
- Trueman, C.N.; Tuross, N. (2002): Trace Elements in Recent and Fossil Bone Apatite. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry* 48 (1): 489-521.
- Trueman, C.N.; Benton, M.J.; Palmer, M.R. (2003): Geochemical taphonomy of shallow marine vertebrate assemblages. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 197 (3-4): 151-169.
- Trueman, C.N.; Behrensmeyer, A.K.; Tuross, N.; Weiner, S. (2004): Mineralogical and compositional changes in bones exposed on soil surfaces in Amboseli National Park, Kenya: Diagenetic mechanisms and the role of sediment pore fluids. *Journal of Archaeological Science* 31 (6): 721-739.
- Trueman, C.N.; Privat, K.; Field, J. (2008): Why do crystallinity values fail to predict the extent of diagenetic alteration of bone mineral? *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 266 (3-4): 160-167.
- Tütken, T. (2010): Die Isotopenanalyse fossiler Skelettreste – Bestimmung der Herkunft und Mobilität von Menschen und Tieren. *Tagungen des Landesmuseums für Vorgeschichte Halle 3*: 33-51.
- Turban-Just, S. (1997): Zum biogenen Abbau menschlicher Knochenkollagene. *Anthropologischer Anzeiger* 55 (2): 131-141.
- Turchetto, M.; Lafisca, S.; Constantini, G. (2001): Postmortem interval (PMI) determined by study sarcophagous biocenoses: three cases from the province of Venice (Italy). *Forensic Science International* 120 (1-2): 28-31.
- Turner, B.; Wiltshire, P. (1999): Experimental validation of forensic evidence: a study of the decomposition of buried pigs in a heavy clay soil. *Forensic Science International* 101 (2): 113-122.
- Turner-Walker, G. (1998): Pyrite and bone diagenesis in terrestrial sediments evidence from the West Runton freshwater bed. *Bulletin of the Geological Society of Norfolk* 48: 3-26.
- Turner-Walker, G. (2008): The chemical and microbial degradation of bones and teeth. In Pinhasi, R.; Mays, S. (Hrsg.): *Advances in Human Palaeopathology*. Wiley, Chichester: 3-30.
- Turner-Walker, G.; Xu, B.-Y. (2013): Young's Modulus and Mineral Changes in Artificially Aged Bovine Bone. Vortrag, 7th International Bone Diagenesis Meeting, 22.-25. Oktober, Lyon, Frankreich.
- Turner-Walker, G.; Syversen, U. (2002): Quantifying histological changes in archaeological bones using BSE-SEM image analysis. *Archaeometry* 44 (3): 461-468.
- Turner-Walker, G.; Nielsen-Marsh, C.M.; Syversen, U.; Kars, H.; Collins, M.J. (2002): Sub-micron spongiform porosity is the major ultra-structural alteration occurring in archaeological bone. *International Journal of Osteoarchaeology* 12 (6): 407-414.
- Tuross, N. (2002): Alterations in fossil collagen. *Archaeometry* 44 (3): 427-434.
- Tuross, N.; Fogel, M.L.; Hare, P.E. (1988): Variability in the preservation of the isotopic composition of collagen from fossil bone. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 52 (4): 929-935.
- Tuross, N.; Behrensmeyer, A.K.; Eanes, E.D. (1989a): Strontium increases and crystallinity changes in taphonomic and archaeological bone. *Journal of Archaeological Science* 16 (6): 661-672.
- Tuross, N.; Behrensmeyer, A.K.; Eanes, E.D.; Fisher, L.W.; Hare, P.E. (1989b): Molecular preservation and crystallographic alterations in a weathering sequence of wildebeest bones. *Applied Geochemistry* 4 (3): 261-270.

7. LITERATUR

- Ubelaker, D.H. (1997): Taphonomic applications in forensic anthropology. In Haglund, W.D.; Sorg, M.H. (Hrsg.): *Forensic Taphonomy: The Postmortem Fate of Human Remains*. CRC Press Inc., Boca Raton, London, New York, Washington DC: 77-90.
- Üçisik, A.S.; Rushbrook, P. (1998): The impact of cemeteries on the environment and public health: an introductory briefing. WHO Regional Office for Europe, Copenhagen.
- USDA Soil Survey Division Staff (1993): *Soil survey manual*. United States Department of Agriculture Handbook 18, Washington, D.C.
- USDA Soil Survey Staff (1998): *Keys to soil taxonomy*. United States Department of Agriculture Natural Resources Conservation Service 8, Washington, D.C.
- van Klinken, G.J.; Mook, W. (1990): Preparative high-performance liquid chromatography separation of individual amino acids derived from fossil bone collagen. *Radiocarbon* 32 (2): 155-164.
- van Klinken, G.J.; Hedges, R.E.M. (1995): Experiments on collagen-humic interactions: Speed of humic uptake, and effects of diverse chemical treatments. *Journal of Archaeological Science* 22 (2): 263-270.
- van Klinken, G.J. (1999): Bone collagen quality indicators for palaeodietary and radiocarbon measurements. *Journal of Archaeological Science* 26 (6): 687-695.
- Vass, A.A.; Bass, W.M.; Wolt, J.D.; Foss, J.E.; Ammons, J.T. (1992): Time since death determination of human cadavers using soil solution. *Journal of Forensic Sciences* 37 (5): 1236-1253.
- Vass, A.A. (2001): Beyond the grave – understanding human decomposition. *Microbiology Today* 28: 190-192.
- Vass, A.A.; Barshick, S.-A.; Sega, G.; Caton, J.; Skeen, J.T.; Love, J.C.; Synstelien, J.A. (2002): Decomposition chemistry of human remains: a new methodology for determining the postmortem interval. *Journal of Forensic Sciences* 47 (3): 542-553.
- Viguet-Carrin, S.; Garnero, P.; Delmas, P.D. (2006): The role of collagen in bone strength. *Osteoporosis International* 17 (3): 319-336.
- von Heyking, K. (2013): *Anthropologie einer frühstädtischen Randgruppe - morphologische und archäometrische Untersuchung eines hoch- bis spätmittelalterlichen Armenhausgräberfeldes in Regensburg*. Dissertation, Fakultät für Biologie, Institut für Anthropologie und Humangenetik, Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Wahl, J. (2012): Aktenzeichen BR 162 ungelöst. In Wahl, J. (Hrsg.): *15000 Jahre Mord und Totschlag. Anthropologen auf der Spur spektakulärer Verbrechen*. Theiss: 70-81.
- Walcher, K. (1933): Eindringen von Maden in die Spongiosa der großen Röhrenknochen. *Deutsche Zeitschrift für die gesamte gerichtliche Medizin* 20 (1): 469-471.
- Walcher, K. (1937): Die späteren Leichenerscheinungen. In Hueck, W.; Frei, W. (Hrsg.): *Ergebnisse der Allgemeinen Pathologie und Pathologischen Anatomie des Menschen und der Tiere*. Springer, Berlin, Heidelberg: 55-137.
- Warinner, C.; Tuross, N. (2009): Alkaline cooking and stable isotope tissue-diet spacing in swine: archaeological implications. *Journal of Archaeological Science* 36 (8): 1690-1697.
- Watanabe, T. (2002): *Pictorial atlas of soil and seed fungi: Morphologies of cultured fungi and key to species*. CRC Press LLC, Boca Raton.
- Webb, E. C.; White, C. D.; Longstaffe, F. J. (2014): Investigating inherent differences in isotopic composition between human bone and enamel bioapatite: implications for reconstructing residential histories. *Journal of Archaeological Science* 50: 97-107.

- Wedl, C. (1864): Über einen im Zahnbein und Knochen keimenden Pilz. Akademie der Wissenschaften in Wien. Sitzungsberichte Naturwissenschaftliche Klasse 50 (1): 171-193.
- Weiner, S.; Bar-Yosef, O. (1990): States of preservation of bones from prehistoric sites in the Near East: A survey. *Journal of Archaeological Science* 17 (2): 187-196.
- Weiner, S.; Traub, W. (1992): Bone structure: from angstroms to microns. *The FASEB Journal* 6 (3): 879-885.
- Weiner, S.; Goldberg, P.; Bar-Yosef, O. (1993): Bone preservation in Kebara Cave, Israel, using on-site Fourier Transform Infrared Spectrometry. *Journal of Archaeological Science* 22 (6): 613-627.
- Weiner, S.; Wagner, H.D. (1998): The material bone: Structure-Mechanical Function Relations. *Annual Review of Materials Science* (28): 271-298.
- Weiner, S.; Traub, W.; Wagner, H.D. (1999): Lamellar bone: Structure-function relations. *Journal of Structural Biology* 126 (3): 241-255.
- Weinhardt, E. (2010): Anthropologie und Paläoökologie eines Ausschnitts der mittelalterlichen Bevölkerung Kemptens (St. Mang-Platz, 10. – 16. Jahrhundert). Diplomarbeit, Fakultät für Biologie, Institut für Anthropologie und Humangenetik, Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Wendt-Breslau, H. (2013): Die Fettresorption aus dem Darm und ihre Störungen. In Czerny, A.; Kraus, F.; Langstein, L. (Hrsg.): *Ergebnisse der inneren Medizin und Kinderheilkunde*. Springer, Berlin: 213-269.
- White, C.D.; Spence, M.W.; Stuart-Williams, H.L.Q.; Schwarcz, H.P. (1998): Oxygen isotopes and the identification of geographical origins: the valley of Oaxaca versus the valley of Mexico. *Journal of Archaeological Science* 25 (7): 643-655.
- White, L.; Booth, T.J. (2014): The origin of bacteria responsible for bioerosion to the internal bone microstructure: Results from experimentally-deposited pig carcasses. *Forensic Science International* 239: 92-102.
- Widdel, F.; Kohring, G.-W.; Mayer, F. (1983): Studies on dissimilatory sulfate-reducing bacteria that decompose fatty acids. *Archives of Microbiology* 134 (4): 286-294.
- Wiechmann, I.; Harbeck, M.; Grupe, G. (2010): *Yersinia pestis* DNA sequences in Late Medieval skeletal finds, Bavaria. *Emerging Infectious Diseases* 16 (11): 1806-1807.
- Wilkin, R.T.; Barnes, H.L. (1996): Pyrite formation by reactions of iron monosulfides with dissolved inorganic and organic sulfur species. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 60 (21): 4167-4179.
- Wilson, E.E.; Awonusi, A.; Morris, M.D.; Kohn, D.H.; Tecklenburg, M.M.J.; Beck, L.W. (2005): Highly ordered interstitial water observed in bone by nuclear magnetic resonance. *Journal of Bone and Mineral Research* 20 (4): 625-634.
- Wilson, E.E.; Awonusi, A.; Morris, M.D.; Kohn, D.H.; Tecklenburg, M.M.J.; Beck, L.W. (2006): Three structural roles for water in bone observed by solid-state NMR. *Biophysical Journal* 90 (10): 3722-3731.
- Wings, O. (2004): Authigenic minerals in fossil bones from the Mesozoic of England: Poor correlation with depositional environments. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 204 (1-2): 15-32.
- Winkler, F.J.; Schmidt, H.-L. (1980): Einsatzmöglichkeiten der ^{13}C -Isotopen-Massenspektrometrie in der Lebensmitteluntersuchung. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung* 171 (2): 85-94.

7. LITERATUR

- Wise, E.R.; Maltsev, S.; Davies, M.E.; Duer, M.J.; Jaeger, C.; Loveridge, N.; Murray, R.C.; Reid, D.G. (2007): The organic–mineral interface in bone is predominantly polysaccharide. *Chemistry of Materials* 19 (21): 5055–5057.
- Wopenka, B.; Pasteris, J.D. (2005): A mineralogical perspective on the apatite in bone. *Materials Science and Engineering: C* 25 (2): 131–143.
- Wright, L.E.; Schwarcz, H.P. (1996): Infrared and isotopic evidence for diagenesis of bone apatite at Dos Pilas, Guatemala: Palaeodietary implications. *Journal of Archaeological Science* 23 (6): 933–944.
- Yamaguchi, T. (1965): Comparison of the cell-wall composition of morphologically distinct actinomycetes. *Journal of Bacteriology* 89 (2): 444–453.
- Yan, F.; McNally, R.; Kontanis, E.J.; Sadik, O.A. (2001): Preliminary quantitative investigation of postmortem adipocere formation. *Forensic Science International* 46 (3): 609–614.
- Yoshino, M.; Kimijima, T.; Miyasaka, S.; Sato, H.; Seta, S. (1991): Microscopical study on estimation of time since death in skeletal remains. *Forensic Science International* 49: 143–158.
- Zapata, J.; Pérez-Sirvent, C.; Martínez-Sánchez, M.J.; Tovar, P. (2006): Diagenesis, not biogenesis: Two late Roman skeletal examples. *The Science of the Total Environment* 369 (1–3): 357–368.
- Zazzo, A. (2014): Bone and enamel carbonate diagenesis: A radiocarbon prospective. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 416: 168–178.
- Zazzo, A.; Lécuyer, C.; Mariotti, A. (2004a): Experimentally-controlled carbon and oxygen isotope exchange between bioapatites and water under inorganic and microbially-mediated conditions. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 68 (1): 1–12.
- Zazzo, A.; Lécuyer, C.; Sheppard, S.M.F.; Grandjean, P.; Mariotti, A. (2004b): Diagenesis and the reconstruction of palaeoenvironments: A method to restore original $\delta^{18}\text{O}$ values of carbonate and phosphate from fossil tooth enamel. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 68 (10): 2245–2258.
- Zhang, Z.; Li, G.; Shi, B. (2000): Physicochemical properties of collagen, gelatin and collagen hydrolysate derived from bovine limed split wastes. *Journal of the Society of Leather Technologists and Chemists* 90: 23–28.
- Zhong, C.; Chu, C. C. (2012): Biomimetic mineralization of acid polysaccharide-based hydrogels: towards porous 3-dimensional bone-like biocomposites. *Journal of Materials Chemistry* 22 (13): 6080–6087.
- Ziv, V.; Weiner, S. (1994): Bone crystal sizes: A comparison of transmission electron microscopic and X-ray diffraction line width broadening techniques. *Connective Tissue Research* 30 (3): 165–175.

Weitere Quellen

NIST Chemistry WebBook: <http://webbook.nist.gov/chemistry> (Stand September 2014)

http://probelab.geo.umn.edu/electron_microprobe.html (Stand Februar 2015)

Dodge Chemicals, www.dodgeco.com (Stand November 2014)

Statistisches Bundesamt, www.destatis.de (Stand Juli 2015)

<http://mycota-crc.mnhn.fr> (Stand Juni 2015)

Buzgar, N.; Apopei, A.I.; Buzatu, A. (2009): Romanian Database of Raman Spectroscopy, <http://rdrs.uaic.ro> (Stand Juli 2015)

www.statpages.org (Stand August 2015)

Online Isotopes in Precipitation Calculator, <http://www.waterisotopes.org> (Stand Juli 2015)

8. Anhang

a) Rohdatentabellen

Tablle 8.1 Übersicht über die Individualdaten der untersuchten bodengelagerten Proben.

Probe	Liegezeit [a]	Individual- alter [a]	Altersklasse	Geschlecht	Assoziierte Materialien
WF 01	26	82	Senilis	w	Kleidung/Sarg
WF 02	60	80	Senilis	m	
WF 03	10	75	Senilis	w	Kleidung/Sarg
WF 04	14	95	Senilis	w	Kleidung/Sarg
WF 05	33	55	Maturitas	w	Kleidung/Sarg
WF 06	25	87	Senilis	w	
WF 08b	21	80	Senilis	m	Kleidung/Sarg
WF 09	16	68	Senilis	m	Kleidung/Sarg
WF 10	22	85	Senilis	w	Kleidung/Sarg
WF 11	12	88	Senilis	w	Kleidung/Sarg
WF 12	40	79	Senilis	w	
WF 13	18	76	Senilis	m	
WF 14a	21	81	Senilis	m	Kleidung/Sarg
WF 14b	9	78	Senilis	w	Kleidung/Sarg
WF 15	22	79	Senilis	m	Plastikfolie
WF 16	30	67	Senilis	m	Kleidung/Sarg
WF 17	35	63	Senilis	w	Kleidung/Sarg
WF 18	46	38	Adultas	w	Kleidung/Sarg
WF 19	22	76	Senilis	m	Kleidung/Sarg
WF 20b	23	86	Senilis	w	
WF 21a	25	67	Senilis	m	Kleidung/Sarg
WF 22	8	77	Senilis	w	Kleidung/Sarg
WF 24	34	21	Adultas	m	Zinksarg
WF 25	22	80	Senilis	m	Kleidung/Sarg
WF 26	11	72	Senilis	w	Kleidung/Sarg
WF 27	50	73	Senilis	m	
WF 28	9	64	Senilis	w	Kleidung/Sarg

Probe	Liegezeit [a]	Individual- alter [a]	Altersklasse	Geschlecht	Assoziierte Materialien
WF 29b	38	82	Senilis	w	Kleidung/Sarg
WF 30	19	91	Senilis	w	Kleidung/Sarg
WF 31	25	68	Senilis	m	
WF 33	26	87	Senilis	w	
WF 34	33	68	Senilis	m	
WF 36	22	78	Senilis	m	
WF 37	21	87	Senilis	w	
WF 39b	41	70	Senilis	w	Kleidung/Sarg
WF 40b	43	73	Senilis	w	
WF 41	23	64	Senilis	w	Kleidung/Sarg
WF 42a	10	78	Senilis	m	Plastikfolie
WF 42b	17	89	Senilis	m	
WF 43	11	82	Senilis	w	Kleidung/Sarg
WF 44	39	67	Senilis	w	
WF 45	51	16	Juvenis	m	
WF 46	44	73	Senilis	w	
WF 47	22	22	Adultas	m	
WF 48	37	80	Senilis	w	
WF 49b	33	60	Senilis	w	
WF 50	12	81	Senilis	m	Kleidung/Sarg
WF 51	11	59	Senilis	m	Kleidung/Sarg
WF 52	21	71	Senilis	m	Kleidung/Sarg
WF 53	28	82	Senilis	w	Kleidung/Sarg
Alt 1	115		Adultas	w	
Alt 220	115		Senilis	m	
Alt 240	115		Maturitas	w	
Alt 64	115		Senilis	m	
Alt 93	115		Adultas	w	
MP 54	650		Adultas	w	
MP 59	650		Maturitas	w	
MP 68	650		Maturitas	w	
SB 626	1150		Senilis	w	
SB 664	1150		Senilis	m	
BW 12	1500		Adultas	w	
BW 3	1500		Adultas	m	
BW 14	1500		Maturitas	m	
BW 9	1500		Adultas	w	
BW 10	1500		Adultas	w	
MWL 55	2300		Maturitas	m	
MWL 137	2300		Adultas	w	
MWL 193	2300			m	
MWL 251	2300		Maturitas	w	
MWL 408	2300		Senilis	m	
OTZ 1	2600			m	
KE 145	1000		Maturitas	m	

Probe	Liegezeit [a]	Individual- alter [a]	Altersklasse	Geschlecht	Assoziierte Materialien
KE 150	1000		Adultas	w	
KE 161	1000		Juvenis	w	
KE 174	1000		Adultas	m	
KE 192	1000		Adultas	w	
MG 1087	4000		Adultas	w	
MG 1340	4000		Adultas	m	
FH 3419	4000		Adultas	m	
FH 3520	4000		Adultas	w	
BrA 10	6000		Maturitas	w	
BrA 11	6000		Maturitas	m	
BrA 12	6000		Adultas	m	
BrA 3	6000		Adultas	m	
BrA 7	6000		Adultas	m	

Tabelle 8.2 Charakteristika der analysierten Bodenproben aus den Gräbern des Westfriedhofs.

Probe	Konsistenz	Farbcode	Textur	Carbonatgehalt	pH-Wert
WF 1	locker	2.5YR/3/3	Sand	hoch	7,8
WF 2	locker	2.5YR/4/3	Sand	gering	7,9
WF 3	weich	2.5YR/3/2	Mittlerer Ton	gering	6,9
WF 4	locker	2.5YR/6/3	Sand	hoch	7,8
WF 5	weich	2.5YR/3/3	Sandiger Tonlehm	gering	7,8
WF 6	locker	2.5YR/4/3	Sandiger Tonlehm	hoch	8,1
WF 8b	locker	2.5YR/3/3	Sandiger Lehm	hoch	8,2
WF 9	locker	2.5YR/4/4	Lehmiger Sand	hoch	7,2
WF 10	weich	2.5YR/3/3	Sandiger Lehm	hoch	8,2
WF 11	weich	2.5YR/3/3	Schluffiger Lehm	hoch	7,7
WF 12	locker	2.5YR/3/3	Sandiger Tonlehm	mäßig	7,9
WF 13	fest	2.5YR/4/3	Sand	gering	8,2
WF 14a	weich	2.5YR/3/1	Tonlehm	hoch	6,8
WF 14b	weich	2.5YR/3/1	Tonlehm	hoch	6,8
WF 15	locker	2.5YR/3/3	Sandiger Lehm	hoch	7,7
WF 16	weich	2.5YR/3/3	Sandiger Lehm	hoch	7,8
WF 17	fest	2.5YR/4/3	Sandiger Tonlehm	hoch	7,3
WF 18	locker	2.5YR/3/3	Sandiger Tonlehm	hoch	7,2
WF 19	weich	2.5YR/3/2	Sandiger Lehm	mäßig	7,5
WF 20b	weich	2.5YR/3/2	Tonlehm	gering	7
WF 21a	locker	2.5YR/3/3	Sandiger Lehm	mäßig	6,7
WF 22	weich	2.5YR/3/2	Mittlerer Ton	gering	7,5
WF 24	locker	2.5YR/4/4	Sand	mäßig	7,9
WF 25	weich	2.5YR/3/3	Sandiger Tonlehm	mäßig	7,7
WF 26	weich	2.5YR/3/3	Lehmiger Sand	mäßig	7,8
WF 27	weich	2.5YR/3/3	Sandiger Tonlehm	gering	7,6
WF 28	locker	2.5YR/3/3	Sandiger Lehm	hoch	6,5
WF 29b	weich	2.5YR/3/3	Sandiger Tonlehm	mäßig	6,2
WF 30	locker	2.5YR/3/3	Sand	hoch	7,6
WF 31	locker	2.5YR/3/3	Mittlerer Ton	gering	7,5
WF 33	weich	2.5YR/3/1	Sandiger Lehm	gering	7,5
WF 34	locker	2.5YR/6/3	Sandiger Lehm	hoch	8,1

Probe	Konsistenz	Farbcode	Textur	Carbonatgehalt	pH-Wert
WF 36	weich	2.5YR/3/2	Sandiger Lehm	mäßig	7,3
WF 37	weich	2.5YR/3/2	Sandiger Lehm	hoch	6,8
WF 39b	weich	2.5YR/3/3	Sandiger Lehm	hoch	8,2
WF 40b	weich	2.5YR/3/1	Sandiger Lehm	hoch	7,5
WF 41	weich	2.5YR/3/2	Toniger Sand	gering	7,6
WF 42a	weich	2.5YR/3/2	Mittlerer Ton	gering	7,6
WF 42b	weich	2.5YR/3/2	Mittlerer Ton	gering	7,6
WF 43	weich	2.5YR/3/2	Sandiger Lehm	hoch	8,4
WF 44	locker	2.5YR/3/3	Sandiger Lehm	hoch	6,4
WF 45	locker	2.5YR/6/4	Sand	hoch	7,9
WF 46	locker	2.5YR/6/4	Sand	hoch	6,7
WF 47	locker	2.5YR/6/4	Sand	hoch	7,6
WF 48	weich	2.5YR/3/3	Lehmiger Sand	hoch	8
WF 49b	weich	2.5YR/3/2	Sandiger Tonlehm	mäßig	5,8
WF 50	weich	2.5YR/4/2	Sandiger Tonlehm	gering	7,8
WF 51	weich	2.5YR/3/3	Sand	hoch	8
WF 52	fest	2.5YR/4/3	Sandiger Lehm	hoch	7,5
WF 53	locker	2.5YR/3/3	Sandiger Tonlehm	mäßig	7,5

Tabelle 8.3 Ergebnisse der histologischen Untersuchung der bodengelagerten Proben.

Probe	OHI	Eindringtiefe Huminstoffe	Adipocire	Osteoporose	Auffälligkeiten
WF 01	5	100-500 µm	nein	keine/leicht	keine
WF 02	4	> 500 µm	nein	keine/leicht	keine
WF 03	5	0-100 µm	nein	keine/leicht	keine
WF 04	5	0-100 µm	nein	keine/leicht	keine
WF 05	5	0-100 µm	nein	keine/leicht	keine
WF 06	5	0-100 µm	nein	keine/leicht	keine
WF 08b	5	0-100 µm	nein	mittel/schwer	keine
WF 09	5	> 500 µm	nein	mittel/schwer	periost. Auflagerungen
WF 10	5	0-100 µm	nein	keine/leicht	keine
WF 11	5	0-100 µm	nein	keine/leicht	keine
WF 12	5	> 500 µm	nein	keine/leicht	keine
WF 13	5	100-500 µm	nein	keine/leicht	keine
WF 14a	5	0-100 µm	ja	keine/leicht	keine
WF 14b	5	0-100 µm	ja	keine/leicht	keine
WF 15	5	0-100 µm	nein	keine/leicht	periost. Porosität
WF 16	5	0-100 µm	nein	keine/leicht	keine
WF 17	5	> 500 µm	nein	keine/leicht	periost. Porosität
WF 18	5	100-500 µm	nein	mittel/schwer	keine
WF 19	5	100-500 µm	nein	keine/leicht	periost. Porosität
WF 20b	5	0-100 µm	nein	keine/leicht	keine
WF 21a	5	> 500 µm	nein	mittel/schwer	Haltelinien
WF 22	5	0-100 µm	nein	keine/leicht	keine

Probe	OHI	Eindringtiefe Huminstoffe	Adipocire	Osteoporose	Auffälligkeiten
WF 24	5	0-100 µm	ja	keine/leicht	keine
WF 25	5	0-100 µm	nein	keine/leicht	keine
WF 26	5	100-500 µm	nein	keine/leicht	keine
WF 27	5	0-100 µm	nein	mittel/schwer	keine
WF 28	5	0-100 µm	ja	keine/leicht	keine
WF 29b	5	> 500 µm	nein	keine/leicht	keine
WF 30	5	100-500 µm	nein	keine/leicht	keine
WF 31	5	100-500 µm	nein	keine/leicht	periost. Porosität
WF 33	5	0-100 µm	nein	keine/leicht	keine
WF 34	4	> 500 µm	nein	mittel/schwer	keine
WF 36	5	0-100 µm	nein	keine/leicht	keine
WF 37	5	0-100 µm	nein	keine/leicht	keine
WF 39b	5	0-100 µm	nein	keine/leicht	keine
WF 40b	5	0-100 µm	nein	keine/leicht	keine
WF 41	5	0-100 µm	nein	keine/leicht	keine
WF 42a	5	0-100 µm	ja	keine/leicht	keine
WF 42b	5	0-100 µm	nein	keine/leicht	periost. Porosität
WF 43	5	0-100 µm	ja	keine/leicht	keine
WF 44	5	> 500 µm	nein	keine/leicht	periost. Auflagerung
WF 45	5	100-500 µm	nein	keine/leicht	sonstige Umbaustörung
WF 46	4	0-100 µm	nein	mittel/schwer	keine
WF 47	4	0-100 µm	nein	keine/leicht	keine
WF 48	5	0-100 µm	nein	keine/leicht	keine
WF 49b	4	100-500 µm	nein	keine/leicht	periost. Auflagerung
WF 50	4	100-500 µm	nein	keine/leicht	keine
WF 51	5	0-100 µm	nein	keine/leicht	periost. Porosität
WF 52	4	0-100 µm	nein	keine/leicht	keine
WF 53	5	0-100 µm	nein	keine/leicht	periost. Porosität
Alt 1	0	0-100 µm	nein	mittel/schwer	periost. Auflagerungen
Alt 220	1	> 500 µm	nein	keine/leicht	keine
Alt 240	2	> 500 µm	nein	mittel/schwer	keine
Alt 64	0	0-100 µm	nein	mittel/schwer	keine
Alt 93	2	0-100 µm	nein	keine/leicht	Haltelinien
MP 54	1	> 500 µm	nein	mittel/schwer	keine
MP 59	3	0-100 µm	nein	mittel/schwer	keine
MP 68	4	0-100 µm	nein	mittel/schwer	keine
SB 626	3	0-100 µm	nein	keine/leicht	keine
SB 664	4	0-100 µm	nein	keine/leicht	keine
BW 12	2	0-100 µm	nein	mittel/schwer	keine
BW 3	0	0-100 µm	nein	keine/leicht	Haltelinien
BW 14	0	0-100 µm	nein	keine/leicht	keine
BW 9	0	0-100 µm	nein	mittel/schwer	keine
BW 10	1	0-100 µm	nein	mittel/schwer	keine
MWL 55	4	0-100 µm	nein	mittel/schwer	keine
MWL 137	4	100-500 µm	nein	keine/leicht	sonstige Umbaustörung
MWL 193	1	0-100 µm	nein	mittel/schwer	keine

Probe	OHI	Eindringtiefe Huminstoffe	Adipocire	Osteoporose	Auffälligkeiten
MWL 251	4	0-100 µm	nein	mittel/schwer	keine
MWL 408	4	0-100 µm	nein	mittel/schwer	keine
OTZ 1	4	0-100 µm	nein	keine/leicht	Haltelinien
KE 145	3	0-100 µm	nein	keine/leicht	keine
KE 150	3	0-100 µm	nein	keine/leicht	keine
KE 161	3	0-100 µm	nein	mittel/schwer	keine
KE 174	2	0-100 µm	nein	keine/leicht	keine
KE 192	2	0-100 µm	nein	mittel/schwer	keine
MG 1087	0	0-100 µm	nein	keine/leicht	keine
MG 1340	0	0-100 µm	nein	keine/leicht	keine
FH 3419	0	0-100 µm	nein	mittel/schwer	keine
FH 3520	0	0-100 µm	nein	keine/leicht	keine
BrA 10	0	0-100 µm	nein	mittel/schwer	keine
BrA 11	1	0-100 µm	nein	mittel/schwer	keine
BrA 12	1	0-100 µm	nein	mittel/schwer	keine
BrA 3	0	0-100 µm	nein	mittel/schwer	keine
BrA 7	1	0-100 µm	nein	mittel/schwer	Haltelinien

Tabelle 8.4 Histologische Merkmale der *in vitro* und *in situ* experimentell degradierten Proben.

Probe	OHI	Probe	OHI	Auffälligkeiten
Femur 1 Kontrolle (aerob)	5	Reh 1, 72 Tage	5	Auflagerungen
Femur 2 Kontrolle (aerob)	5	Reh 1, 178 Tage	4	keine
Femur 3 Kontrolle (aerob)	5	Reh 2, 72 Tage	5	Auflagerungen
Femur 1 Pseudomonas fluorescens	4	Reh 2, 178 Tage	4	Auflagerungen
Femur 2 Pseudomonas fluorescens	4	Reh 3, 72 Tage	4	keine
Femur 3 Pseudomonas fluorescens	5	Reh 3, 178 Tage	4	keine
Femur 1 Streptomyces griseus	4	Reh 4, 72 Tage	5	Auflagerungen
Femur 2 Streptomyces griseus	4	Reh 4, 178 Tage	4	Auflagerungen
Femur 3 Streptomyces griseus	4	Reh 5, 72 Tage	5	keine
Femur 1 Kontrolle (anaerob)	5	Reh 5, 178 Tage	5	keine
Femur 2 Kontrolle (anaerob)	5	Reh 6, 51 Tage	4	keine
Femur 3 Kontrolle (anaerob)	5	Reh 6, 157 Tage	4	keine
Femur 1 Prevotella melaninogenica	5	Reh 7, 51 Tage	5	keine
Femur 2 Prevotella melaninogenica	4	Reh 7, 157 Tage	4	keine
Femur 3 Prevotella melaninogenica	5	Reh 8, 51 Tage	4	Auflagerungen
Femur 1 Clostridium histolyticum	5	Reh 8, 157 Tage	4	Auflagerungen
Femur 2 Clostridium histolyticum	5	Reh 9, 51 Tage	4	keine
Femur 3 Clostridium histolyticum	5	Reh 9, 157 Tage	4	keine
		Reh 10, 51 Tage	4	Auflagerungen
		Reh 10, 157 Tage	4	Auflagerungen

Tabelle 8.5 Ergebnisse der Untersuchung des Knochenkollagens der analysierten Knochen.

Probe	% Kollagengewicht	% C	% N	C/N-molar	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$
WF 1	8,24	42,81	15,27	3,27	-19,71	11,81
WF 2	9,15	41,90	15,10	3,24	-19,98	13,01
WF 3	11,93	48,66	17,46	3,25	-19,77	11,94
WF 4	3,28	42,06	15,00	3,27	-19,65	11,57
WF 5	8,43	43,64	15,73	3,24	-19,53	11,75
WF 6	6,10	40,12	15,06	3,11	-19,61	11,45
WF 8b	7,01	39,98	14,11	3,30	-18,78	12,08
WF 9	7,71	41,60	14,84	3,27	-19,55	11,67
WF 10	5,69	43,02	16,15	3,11	-19,67	12,02
WF 11	6,91	43,82	15,59	3,28	-19,96	11,46
WF 12	9,37	44,34	15,94	3,24	-20,03	11,25
WF 13	2,60	44,02	16,56	3,10	-19,78	11,43
WF 14a	3,31	42,70	15,97	3,12	-20,01	11,49
WF 14b	3,54	43,62	16,45	3,09	-19,90	11,58
WF 15	8,73	42,37	15,21	3,25	-19,38	12,44
WF 16	5,76	43,94	16,56	3,09	-18,94	12,05
WF 17	4,37	44,36	16,74	3,09	-19,78	10,89
WF 18	6,71	44,77	16,30	3,20	-19,59	11,82
WF 19	7,71	44,94	16,30	3,21	-19,51	12,08
WF 20b	7,32	41,55	16,38	2,96	-19,65	11,84
WF 21a	5,62	41,08	15,44	3,10	-19,89	11,23
WF 22	4,39	44,02	15,92	3,23	-20,15	11,21
WF 24	10,93	45,06	16,09	3,27	-19,95	11,45
WF 25	4,66	44,95	15,82	3,31	-19,76	11,80
WF 26	8,21	43,44	15,80	3,20	-20,06	11,44
WF 27	7,56	44,51	15,93	3,26	-19,83	11,53
WF 28	7,16	42,88	15,60	3,20	-19,58	11,62
WF 29b	8,23	44,81	15,64	3,35	-20,03	12,36
WF 30	7,07	47,30	16,91	3,26	-19,96	11,18
WF 31	8,92	43,48	15,74	3,23	-19,02	12,13
WF 33	9,87	42,91	15,33	3,27	-19,92	11,31
WF 34	7,57	42,79	15,26	3,27	-19,72	11,92
WF 36	5,82	42,52	15,32	3,24	-19,49	11,94
WF 37	9,39	42,74	15,31	3,25	-19,93	11,73
WF 39b	8,09	40,89	15,00	3,18	-19,89	11,23
WF 40b	7,30	37,18	15,56	2,79	-19,97	11,65
WF 41	12,81	41,91	14,99	3,26	-19,56	11,47
WF 42a	5,98	44,03	15,77	3,25	-19,32	11,43
WF 42b	6,34	42,27	15,32	3,22	-19,49	11,90
WF 43	5,58	41,87	14,88	3,28	-20,14	11,00
WF 44	8,63	43,46	15,52	3,27	-20,05	10,82
WF 45	11,95	40,39	14,53	3,24	-20,36	11,07
WF 46	9,76	39,52	14,80	3,11	-20,25	11,55
WF 47	10,93	46,43	16,46	3,29	-19,81	11,37
WF 48	6,85	41,10	15,27	3,14	-20,51	10,88
WF 49b	9,43	43,91	15,73	3,26	-19,23	12,26
WF 50	6,24	43,00	15,53	3,23	-19,67	11,41
WF 51	8,02	44,21	15,72	3,28	-19,52	10,41
WF 52	10,32	39,64	14,25	3,24	-19,95	11,81
WF 53	7,92	44,35	15,87	3,25	-19,66	11,31
Alt 1	3,86	44,76	14,88	3,51	-19,15	11,54
Alt 64	5,44	37,69	12,57	3,50	-20,14	10,02
Alt 93	9,40	40,07	13,47	3,47	-20,08	13,15
Alt 220	4,81	44,01	14,82	3,46	-17,85	9,15

8. ANHANG

Probe	% Kollagenengewicht	% C	% N	C/N-molar	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$
Alt 240	7,94	49,73	16,30	3,56	-19,74	9,38
MP 54	2,39	40,06	13,60	3,44	-19,91	10,57
MP 59	3,65	40,80	14,05	3,39	-19,63	10,57
MP 68	8,01	38,89	14,14	3,21	-19,76	10,70
SB 626	9,09	43,74	15,38	3,32	-20,14	13,10
SB 664	9,94	43,20	15,00	3,36	-20,04	11,55
BW 12	4,92	31,54	11,61	3,17	-19,58	8,83
BW 3	1,42	33,78	12,25	3,22	-20,04	9,12
BW 14	1,30	19,28	6,96	3,23	-19,70	8,16
BW 9	0,68	19,89	7,18	3,23	-20,25	8,55
BW 10	5,82	35,92	12,87	3,25	-19,82	9,23
MWL 55	6,30	38,15	13,07	3,40	-19,45	10,54
MWL 193	3,15	39,70	14,44	3,21	-19,85	11,54
MWL 137	9,78	43,99	15,43	3,32	-18,61	8,75
MWL 251	5,69	41,64	14,83	3,28	-19,98	8,88
MWL 408	10,72	40,75	15,16	3,14	-19,88	9,78
OTZ 1	10,41	42,21	14,92	3,30	-19,60	9,69
KE 145	8,76	41,89	15,41	3,17	-20,19	9,64
KE 150	11,34	43,00	15,56	3,22	-19,95	9,71
KE 161	5,81	42,35	14,39	3,43	-20,60	9,40
KE 174	9,38	40,48	14,99	3,15	-19,99	9,97
KE 192	12,17	47,08	16,77	3,27	-20,18	9,70
MG 1087	0,20	33,93	12,28	3,22	-21,01	9,43
MG 1340	0,37	35,10	13,74	2,98	-20,73	9,34
FH 3419	4,47	31,92	11,53	3,23	-20,35	9,26
FH 3520	4,52	33,40	11,90	3,27	-20,79	11,90
BRA 10	2,41	42,28	13,78	3,58	-21,06	9,90
BRA 11	1,99	39,28	13,18	3,48	-20,81	9,98
BRA 12	4,25	37,53	12,29	3,56	-20,71	9,86
BRA 3	1,45	38,84	10,82	3,62	-20,81	10,82
BRA 7	1,15	37,08	12,17	3,55	-20,77	10,63
Femur 1, frisch	14,37	43,41	15,10	3,35	-20,12	10,94
Femur 2, frisch	20,89	42,66	15,46	3,22	-20,22	11,13
Femur 3, frisch	11,69	44,94	16,16	3,24	-20,27	11,55
Femur 1, Tag 4	12,76	30,16	14,93	2,36	-19,81	10,08
Femur 1, Tag 6	11,16	41,65	14,50	3,35	-19,83	11,05
Femur 1, Tag 8	10,61	44,09	15,39	3,34	-19,85	10,87
Femur 1, Tag 10	13,77	35,06	14,64	2,79	-19,86	11,58
Femur 1, Tag 12	11,54	41,63	15,94	3,05	-19,94	10,23
Femur 1, Tag 14	12,42	16,28	13,92	1,36	-20,23	4,56
Femur 1, Tag 16	6,58	40,83	14,73	3,23	-19,98	10,55
Femur 1, Tag 20	0,44	19,24	10,97	2,05	-20,72	9,99
Femur 1, Tag 24	0,28	16,28	5,81	3,27	-18,95	8,88
Femur 1, Tag 28	2,19	15,12	8,31	2,12	-32,07	3,47
Femur 1, Tag 32	1,42	15,24	7,43	2,39	-33,84	3,19
Femur 2, Tag 4	22,08	16,12	13,59	1,38	-20,55	7,60
Femur 2, Tag 6	12,05	42,67	15,23	3,27	-20,52	11,31
Femur 2, Tag 8	11,14	43,84	15,70	3,26	-20,23	11,33
Femur 2, Tag 10	11,93	41,92	15,11	3,24	-20,44	11,58
Femur 2, Tag 12	11,34	45,49	16,37	3,24	-20,29	11,63
Femur 2, Tag 14	10,46	40,18	14,41	3,25	-20,42	11,37
Femur 2, Tag 16	8,35	45,49	16,27	3,26	-20,28	11,77
Femur 2, Tag 20	1,39	21,40	11,70	2,13	-20,45	10,35
Femur 2, Tag 24	0,55	14,02	6,36	2,57	-18,18	8,38
Femur 2, Tag 28	0,31	4,95	7,99	0,72	-18,59	5,29
Femur 2, Tag 32	0,11	9,45	1,15	9,56	-16,35	8,93
Femur 3, Tag 4	11,16	40,81	14,94	3,19	-20,22	11,59

Probe	% Kollagengewicht	% C	% N	C/N-molar	δ13C	δ15N
Femur 3, Tag 6	12,55	42,20	15,51	3,17	-20,08	11,05
Femur 3, Tag 8	9,78	43,88	15,42	3,32	-20,23	11,54
Femur 3, Tag 10	11,85	37,82	14,81	2,98	-20,12	10,89
Femur 3, Tag 12	16,32	30,03	14,01	2,50	-19,86	10,97
Femur 3, Tag 14	10,85	47,02	17,42	3,15	-19,97	11,45
Femur 3, Tag 16	6,32	45,31	15,89	3,33	-20,17	11,64
Femur 3, Tag 20	1,03	37,59	14,34	3,06	-19,81	11,47
Femur 3, Tag 24	0,40	24,98	9,77	2,98	-18,86	10,55
Femur 3, Tag 28	0,91	22,25	12,94	2,01	-19,53	8,31
Femur 3, Tag 32	0,16	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Femur 1 Kontrolle (aerob)	13,19	44,37	16,02	3,23	-19,97	10,81
Femur 2 Kontrolle (aerob)	14,39	41,47	15,33	3,15	-20,19	11,11
Femur 3 Kontrolle (aerob)	10,43	45,19	16,75	3,15	-20,50	11,45
Femur 1 <i>Pseudomonas fluorescens</i>	10,44	51,18	18,64	3,20	-20,05	10,85
Femur 2 <i>Pseudomonas fluorescens</i>	14,49	44,35	15,95	3,24	-20,39	11,17
Femur 3 <i>Pseudomonas fluorescens</i>	8,88	44,08	16,15	3,18	-19,72	11,69
Femur 1 <i>Streptomyces griseus</i>	14,28	44,27	15,84	3,26	-20,00	10,69
Femur 2 <i>Streptomyces griseus</i>	13,84	34,29	12,48	3,20	-20,28	11,03
Femur 3 <i>Streptomyces griseus</i>	12,23	48,86	17,39	3,28	-20,45	11,44
Femur 1 Kontrolle (anaerob)	14,91	45,37	16,30	3,25	-20,11	11,11
Femur 2 Kontrolle (anaerob)	13,84	46,51	16,31	3,33	-20,16	10,80
Femur 3 Kontrolle (anaerob)	14,27	41,86	16,30	3,00	-19,86	11,40
Femur 1 <i>Prevotella melaninogenica</i>	14,12	46,98	16,45	3,33	-20,27	10,69
Femur 2 <i>Prevotella melaninogenica</i>	13,66	46,38	16,82	3,22	-19,98	11,10
Femur 3 <i>Prevotella melaninogenica</i>	12,48	46,15	16,71	3,22	-19,74	11,65
Femur 1 <i>Clostridium histolyticum</i>	15,29	45,92	16,59	3,23	-19,56	10,90
Femur 2 <i>Clostridium histolyticum</i>	12,65	46,01	16,62	3,23	-20,12	10,94
Femur 3 <i>Clostridium histolyticum</i>	11,95	44,60	16,01	3,25	-20,02	11,49
Reh 1 frisch	13,94	40,31	15,15	3,10	-24,83	1,28
Reh 2 frisch	12,10					
Reh 3 frisch	11,00	43,24	16,47	3,06	-23,35	3,58
Reh 4 frisch	13,40					
Reh 5 frisch	10,02	44,90	16,74	3,13	-23,98	5,81
Reh 6 frisch	12,50					
Reh 7 frisch	11,21	43,55	15,98	3,18	-23,72	2,11
Reh 8 frisch	14,10					
Reh 9 frisch	10,05	43,56	16,24	3,13	-25,13	3,56
Reh 10 frisch	12,80					
Reh 1, 72 Tage	9,51	51,95	19,43	3,12	-25,06	1,31
Reh 1, 178 Tage	10,65	38,89	14,74	3,08	-24,61	1,94
Reh 2, 72 Tage	7,42					
Reh 2, 178 Tage	12,65					
Reh 3, 72 Tage	10,05	41,86	15,43	3,16	-22,08	2,95
Reh 3, 178 Tage	11,23	50,81	18,84	3,15	-22,73	3,50
Reh 4, 72 Tage	10,39					
Reh 4, 178 Tage	12,92					
Reh 5, 72 Tage	7,65	40,79	15,18	3,13	-23,95	6,18
Reh 5, 178 Tage	9,78	40,44	14,86	3,17	-24,20	5,46
Reh 6, 51 Tage	10,26					
Reh 6, 157 Tage	14,40					
Reh 7, 51 Tage	9,95	43,51	16,01	3,17	-23,87	3,82
Reh 7, 157 Tage	12,07	38,45	14,48	3,10	-23,80	4,13
Reh 8, 51 Tage	14,17					
Reh 8, 157 Tage	14,52					
Reh 9, 51 Tage	11,89	44,30	16,80	3,08	-23,82	3,77
Reh 9, 157 Tage	11,05	55,30	20,54	3,14	-22,62	5,10
Reh 10, 51 Tage	12,72					

Tabelle 8.6 Verwendete Abkürzungen für Aminosäuren und Dipeptide.

Abkürzung	Aminosäure/Dipeptid	Abkürzung	Aminosäure/Dipeptid
OH-pro	Hydroxyprolin	lys	Lysin
asp	Asparaginsäure	arg	Arginin
thr	Threonin	tau	Taurin
ser	Serin	car	Carnosin
glu	Glutaminsäure	cys2	Cystin
pro	Prolin	P-ser	Phosphoserin
gly	Glycin	aaaa	α -Aminoadipinsäure
ala	Alanin	aaba	α -Aminobuttersäure
val	Valin	trp	Tryptophan
met	Methionin	b-ala	β -Alanin
lle	Isoleucin	baba	β -Aminoisobuttersäure
leu	Leucin	1-M-his	1-Methylhistidin
tyr	Tyrosin	orn	Ornithin
phe	Phenylalanin	urea	Harnstoff
his	Histidin	NH ₄	Ammonium
OH-lys	Hydroxylysin	p-EtOH _a	Phosphoethanolamin

8. ANHANG

Tabelle 8.7 Ergebnisse der Aminosäureanalyse: Proteinogene Aminosäuren, dargestellt in nmol %.

Probe	OH-pro	asp	thr	ser	glu	pro	gly	ala	val	met	ile	leu	tyr	phe	his	OH-lys	lys	arg
WF 01	9,51	2,51	1,31	3,44	6,93	12,09	36,39	12,64	1,50	0,25	0,38	2,33	0,63	1,11	0,38	1,72	2,48	4,42
WF 02	9,24	2,15	1,29	2,83	5,24	13,18	37,47	13,86	1,50	0,38	0,31	2,36	0,16	1,04	0,40	1,09	2,73	4,75
WF 03	9,39	1,83	1,00	2,81	5,46	12,47	38,95	13,83	1,51	0,14	0,29	2,28	0,41	0,82	0,29	1,38	2,57	4,57
WF 04	9,00	2,53	1,15	3,24	2,36	12,34	40,68	13,82	1,73	0,50	0,30	2,32	0,84	0,76	0,38	1,28	2,41	4,34
WF 05	8,84	2,38	0,92	3,21	6,79	11,02	39,10	12,92	1,78	0,37	0,17	2,04	1,33	0,61	0,35	1,96	2,26	3,94
WF 06	9,70	2,47	1,32	3,26	6,47	12,48	35,85	12,81	1,52	0,43	0,45	2,47	0,42	1,18	0,39	1,45	2,57	4,77
WF 08b	8,78	2,39	0,92	3,19	6,38	10,77	39,84	13,60	1,83	0,37	0,02	2,12	0,57	0,94	0,35	1,70	2,23	3,99
WF 09	8,25	2,23	0,98	2,96	5,29	10,73	41,07	13,80	1,81	0,49	0,10	2,30	1,09	0,69	0,39	1,39	2,28	4,16
WF 10	9,73	2,40	1,20	3,33	6,18	11,67	37,61	13,06	1,57	0,37	0,33	2,41	0,55	0,90	0,39	1,18	2,60	4,53
WF 11	7,99	1,83	0,93	2,17	2,53	12,14	44,06	15,25	1,58	0,34	0,12	2,17	0,00	0,80	0,39	0,60	2,54	4,58
WF 12	8,44	2,50	1,08	3,37	6,62	11,98	37,72	13,05	1,61	0,32	0,34	2,39	0,83	0,92	0,38	1,58	2,50	4,37
WF 13	9,22	2,19	1,37	2,59	4,29	11,73	38,58	14,51	1,57	0,27	0,38	2,44	0,30	1,21	0,40	1,09	2,71	5,16
WF 14a	9,08	2,05	1,28	2,50	4,11	13,43	37,54	14,28	1,56	0,52	0,37	2,43	0,43	1,15	0,39	1,19	2,76	4,93
WF 14b	7,74	1,93	0,92	2,58	3,04	11,58	42,93	14,88	1,58	0,53	0,00	1,92	0,62	0,75	0,36	2,11	2,34	4,17
WF 15	9,36	2,41	1,15	3,30	6,59	12,84	36,06	12,97	1,51	0,32	0,27	2,37	0,52	1,01	0,34	1,66	2,65	4,67
WF 16	9,54	2,45	1,28	3,49	7,05	11,44	37,43	12,87	1,68	0,32	0,36	2,39	1,16	1,23	0,36	0,27	2,44	4,25
WF 17	10,11	2,44	1,50	3,60	6,86	12,83	34,93	12,59	1,52	0,15	0,47	2,39	0,22	1,15	0,38	1,44	2,66	4,76
WF 18	7,77	2,31	0,97	3,28	6,42	10,29	40,44	13,28	2,06	0,42	0,06	2,39	1,66	0,95	0,36	1,49	2,09	3,78
WF 19	9,98	2,30	1,26	3,28	5,27	13,31	39,69	14,42	1,71	0,21	0,28	2,49	0,40	1,10	0,37	0,82	2,66	0,47
WF 20b	10,17	1,38	0,93	2,00	1,95	14,62	39,54	15,45	1,59	0,07	0,30	2,59	0,00	0,99	0,27	0,35	2,78	5,03
WF 21a	10,22	2,31	1,35	3,54	6,77	12,83	35,50	12,85	1,48	0,11	0,44	2,46	0,10	1,22	0,36	1,25	2,60	4,64
WF 22	9,51	2,32	1,18	3,48	6,90	12,09	36,56	12,92	1,75	0,21	0,32	2,39	0,66	1,02	0,37	1,70	2,36	4,29
WF 24	10,26	2,37	1,58	3,29	5,86	13,21	35,24	12,96	1,57	0,18	0,48	2,48	0,00	1,30	0,37	1,14	2,77	4,95
WF 25	9,75	2,47	1,46	3,40	5,91	12,97	35,88	13,10	1,54	0,24	0,42	2,49	0,29	1,25	0,42	1,12	2,59	4,69
WF 26	9,66	2,24	1,23	3,31	6,07	12,21	37,60	13,33	1,61	0,16	0,27	2,27	0,57	1,20	0,32	1,20	2,42	4,34
WF 27	9,85	2,59	1,55	3,65	7,45	12,44	34,56	12,25	1,56	0,33	0,54	2,44	0,20	1,15	0,42	1,83	2,61	4,59
WF 28	10,51	1,48	0,95	2,35	4,22	13,93	38,21	14,44	1,41	0,08	0,37	2,41	1,02	1,02	0,24	0,97	2,63	4,78
WF 29b	9,02	2,38	1,09	3,54	6,77	11,42	37,55	13,01	1,77	0,39	0,20	2,26	1,38	0,98	0,33	1,52	2,36	4,04
WF 30	7,61	1,77	0,72	2,97	6,68	10,77	40,96	13,91	1,83	0,17	0,06	2,38	1,57	0,82	0,23	1,53	2,24	3,78
WF 31	10,40	2,56	1,54	3,68	7,28	12,61	33,94	12,32	1,56	0,29	0,53	2,43	0,18	1,24	0,37	1,55	2,66	4,86
WF 33	9,60	2,67	1,64	3,37	7,48	12,73	33,07	11,76	2,30	0,34	0,89	2,61	0,35	1,26	0,47	1,74	2,72	5,00
WF 34	9,85	2,64	1,64	3,26	7,37	12,29	32,84	11,96	2,39	0,36	0,97	2,62	0,37	1,33	0,47	1,75	2,80	5,08

8. ANHANG

Probe	OH-pro	asp	thr	ser	glu	pro	gly	ala	val	met	ile	leu	tyr	phe	his	OH-lys	lys	arg
WF 36	8,68	2,12	1,52	2,24	3,96	14,23	36,10	13,95	2,20	0,44	0,68	2,66	0,00	1,35	0,43	0,96	3,00	5,49
WF 37	9,86	2,50	1,55	3,18	7,11	12,79	33,71	12,07	2,32	0,25	0,88	2,52	0,00	1,28	0,43	1,53	2,84	5,18
WF 39b	8,31	2,19	1,59	2,29	4,23	13,79	35,33	13,39	2,82	0,44	1,19	2,80	0,15	1,41	0,48	0,95	3,04	5,60
WF 40b	8,44	1,97	1,24	2,40	6,16	13,68	35,52	12,85	2,59	0,07	0,99	2,62	0,00	1,21	0,30	1,57	2,96	5,43
WF 41	9,19	2,56	1,64	3,18	7,29	12,48	33,10	11,88	2,55	0,43	0,98	2,56	0,30	1,33	0,44	2,08	2,79	5,21
WF 42a	9,58	2,51	1,62	3,07	6,99	12,98	33,77	11,89	2,49	0,32	0,96	2,58	0,00	1,38	0,45	1,55	2,71	5,14
WF 42b	9,86	2,61	1,59	3,19	7,19	12,97	33,03	11,89	2,46	0,35	0,96	2,54	0,20	1,31	0,41	1,47	2,83	5,14
WF 43	10,03	2,68	1,62	3,48	7,77	11,89	32,78	11,47	2,48	0,41	0,96	2,53	0,20	1,30	0,45	2,07	2,79	5,08
WF 44	8,78	2,51	1,62	2,81	5,70	13,69	33,96	12,49	2,70	0,33	1,15	2,78	0,23	1,40	0,50	0,94	2,98	5,44
WF 45	8,91	2,44	1,62	2,73	5,82	13,19	34,15	12,80	2,18	0,49	0,97	2,77	0,27	1,37	0,45	1,23	3,04	5,57
WF 46	9,86	1,74	1,15	2,13	5,58	13,80	35,46	12,91	2,53	0,08	1,05	2,79	0,04	0,91	0,29	1,27	2,99	5,43
WF 47	10,30	2,69	1,56	3,66	7,72	12,29	32,41	11,70	2,06	0,30	0,82	2,53	0,38	1,27	0,43	2,09	2,86	4,94
WF 48	10,22	2,16	1,32	2,98	7,56	12,83	33,39	12,03	2,54	0,08	1,00	2,53	0,00	1,22	0,32	1,94	2,77	5,11
WF 49b	9,72	2,69	1,80	3,37	7,49	12,24	32,76	11,67	2,53	0,23	1,01	2,64	0,34	1,31	0,51	1,86	2,74	5,07
WF 50	8,86	2,25	1,65	2,37	4,24	13,64	35,13	13,23	2,78	0,44	1,19	2,81	0,16	1,38	0,52	0,92	2,90	5,50
WF 51	9,18	2,37	1,66	2,62	5,41	13,26	34,61	12,88	2,57	0,45	0,95	2,61	0,22	1,35	0,44	1,26	2,82	5,37
WF 52	10,25	2,57	1,72	3,56	7,74	12,69	32,86	11,80	2,02	0,12	0,80	2,55	0,00	1,32	0,43	1,87	2,77	4,96
WF 53	8,97	2,37	1,69	2,48	4,65	13,45	34,57	13,05	2,85	0,40	1,22	2,88	0,21	1,39	0,50	0,89	2,98	5,44
Alt 1	8,74	1,52	1,33	1,60	2,59	14,32	37,24	14,73	3,11	0,07	1,41	2,80	0,00	1,31	0,29	0,07	3,13	5,71
Alt 220	8,29	1,92	1,75	1,84	2,41	14,16	36,37	14,76	3,06	0,41	1,44	2,83	0,09	1,46	0,38	0,09	3,04	5,71
Alt 240	9,97	2,29	1,52	3,00	7,92	12,45	32,41	11,88	2,68	0,06	1,11	2,71	0,00	1,31	0,34	2,32	2,75	5,29
Alt 64	8,80	1,89	1,73	1,77	1,89	14,24	36,47	14,91	2,89	0,31	1,42	2,83	0,00	1,50	0,34	0,05	3,16	5,81
Alt 93	9,98	2,57	1,74	3,28	8,19	12,84	30,60	12,20	2,49	0,07	1,03	2,63	0,14	1,38	0,35	2,10	2,94	5,47
MP 54	9,13	2,40	1,76	2,62	5,42	13,44	35,19	13,12	2,60	0,38	1,16	2,88	0,00	1,44	0,36	0,16	2,73	5,22
MP 59	8,13	1,57	1,71	1,46	0,81	14,81	36,84	15,32	3,23	0,44	1,40	3,16	0,00	1,60	0,43	0,02	3,13	5,96
MP 68	7,97	1,52	1,46	1,32	1,17	15,20	37,21	15,31	3,07	0,19	1,34	3,03	0,00	1,59	0,38	0,04	3,29	5,90
SB 626	7,85	1,41	1,58	1,22	0,82	15,09	36,85	15,45	3,09	0,33	1,65	3,11	0,00	1,57	0,45	0,04	3,27	6,23
SB 664	9,33	2,42	1,83	2,86	6,35	13,04	34,36	12,58	2,55	0,29	1,13	2,90	0,03	1,42	0,49	0,17	2,94	5,30
BW 12	9,89	2,29	1,62	2,96	7,57	12,73	34,81	12,58	2,15	0,23	0,87	2,62	0,00	1,32	0,23	0,42	2,71	4,98
BW 3	10,23	2,71	1,76	3,35	8,11	13,63	30,48	13,10	2,06	0,38	0,83	2,65	0,00	1,41	0,37	0,85	2,88	5,21
BW 14	9,32	2,47	1,62	3,00	7,61	13,66	33,28	13,08	1,99	0,34	0,79	2,63	0,09	1,39	0,30	0,52	2,84	5,05
BW 9	8,92	2,59	1,68	2,99	7,80	13,07	34,17	12,96	2,11	0,26	0,85	2,59	0,08	1,34	0,29	0,61	2,77	4,93
BW 10	9,46	2,43	1,86	2,98	7,06	12,87	34,07	12,41	2,39	0,39	0,98	2,89	0,03	1,48	0,34	0,38	2,74	5,22
MWL 55	7,45	1,15	1,56	0,94	0,13	15,99	37,19	16,49	3,47	0,40	0,90	2,80	0,00	1,58	0,41	0,01	3,24	6,28
MWL 137	9,73	1,91	1,04	2,12	7,51	13,44	34,85	12,67	2,94	0,13	1,25	3,00	0,00	0,68	0,22	0,43	2,87	5,19

8. ANHANG

Probe	OH-pro	asp	thr	ser	glu	pro	gly	ala	val	met	ile	leu	tyr	phe	his	OH-lys	lys	arg
MWL 193	8,23	1,05	1,52	1,21	0,44	15,29	37,61	16,10	3,21	0,29	0,88	2,67	0,00	1,58	0,37	0,03	3,30	6,23
MWL 251	9,50	1,48	1,11	1,75	3,77	14,64	37,35	14,37	2,29	0,11	0,96	2,79	0,03	0,91	0,18	0,13	3,10	5,53
MWL 408	10,02	2,08	1,41	2,91	7,40	13,27	35,11	12,70	1,84	0,13	0,70	2,66	0,00	1,29	0,25	0,47	2,76	5,00
OTZ 1	8,96	1,79	1,28	1,10	6,44	13,49	36,38	13,91	2,56	0,15	1,12	2,73	0,06	1,37	0,29	0,33	2,86	5,18
KE 145	9,12	0,42	0,57	0,43	0,10	18,25	37,65	16,99	2,34	0,03	1,54	2,85	0,00	0,11	0,03	0,01	3,27	6,29
KE 150	9,97	2,29	1,54	3,31	7,40	12,88	35,03	12,52	1,61	0,28	0,60	2,68	0,17	1,36	0,34	0,52	2,64	4,88
KE 161	8,56	1,83	1,53	1,93	2,66	14,11	37,41	14,73	2,21	0,35	0,99	2,89	0,00	1,50	0,38	0,09	3,19	5,63
KE 174	9,89	1,89	1,31	2,70	7,06	13,63	34,77	12,96	1,91	0,14	0,75	2,77	0,02	1,28	0,29	0,53	2,86	5,22
KE 192	8,89	2,00	1,67	2,42	3,66	12,92	36,99	14,32	1,96	0,55	0,89	2,94	0,09	1,55	0,40	0,26	2,99	5,49
MG 1087	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
MG 1340	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
FH 3419	10,43	2,40	1,60	3,26	7,81	13,75	31,92	13,38	1,85	0,27	0,70	2,49		1,31	0,27	0,81	2,76	5,00
FH 3520	10,07	2,61	1,70	3,14	7,87	14,10	30,57	13,65	2,05	0,49	0,80	2,60	0,07	1,36	0,21	0,70	2,92	5,08
BrA 10	10,46	2,27	1,31	3,39	7,82	12,66	33,09	13,31	1,65	0,12	0,44	2,40	0,43	1,25	0,23	1,90	2,61	4,65
BrA 11	9,88	2,31	1,37	3,24	7,52	11,80	29,14	12,16	1,56	0,07	0,50	2,29	0,05	1,21	0,24	2,14	2,51	11,98
BrA 12	10,71	2,82	1,52	3,62	8,29	13,31	32,09	12,94	1,72	0,08	0,53	2,52	0,08	1,32	0,26	0,79	2,73	4,69
BrA 3	11,01	2,53	1,55	3,56	8,28	12,97	30,67	13,06	1,74	0,05	0,59	2,48	0,09	1,32	0,24	2,26	2,67	4,93
BrA 7	10,84	2,56	1,52	3,60	8,24	13,04	30,42	13,39	1,72	0,08	0,51	2,48	0,20	1,32	0,27	2,07	2,82	4,93
Femur 1, frisch	11,76	1,14	0,34	1,20	6,30	15,15	34,24	12,83	2,65	0,07	1,06	2,61	0,05	0,00	0,09	2,59	2,73	5,20
Femur 2, frisch	9,27	2,25	1,64	2,71	6,59	12,92	33,74	12,49	2,69	0,10	1,14	2,72	0,03	1,39	0,36	1,58	2,88	5,50
Femur 3, frisch	9,84	2,35	1,29	3,47	7,74	11,95	34,78	12,80	1,61	0,11	0,42	2,39	0,28	1,30	0,32	2,25	2,50	4,59
Femur 1, Tag 04	24,39	0,56	0,00	0,08	2,71	30,65	23,08	8,34	2,26	0,00	0,78	1,00	0,14	0,44	0,00	0,74	1,43	3,41
Femur 1, Tag 06	7,90	2,28	1,59	2,16	0,00	13,92	37,22	13,87	3,05	0,43	1,21	2,94	0,05	1,48	0,35	2,32	3,21	6,01
Femur 1, Tag 08	9,58	2,49	1,83	2,98	7,40	12,40	31,97	12,48	2,58	0,15	1,06	2,72	0,27	1,39	0,40	1,79	3,02	5,49
Femur 1, Tag 10	12,31	0,93	0,24	0,86	5,25	16,76	33,79	13,29	2,78	0,09	1,08	2,57	0,05	0,09	0,06	2,14	2,72	4,97
Femur 1, Tag 12	10,62	1,82	1,13	2,46	7,43	13,52	32,11	12,87	2,68	0,06	1,09	2,70	0,03	0,76	0,25	1,91	3,02	5,53
Femur 1, Tag 14	43,28	0,00	0,00	0,00	0,00	55,72	0,46	0,00	0,00	0,00	0,00	0,09	0,00	0,46	0,00	0,00	0,00	0,00
Femur 1, Tag 16	10,75	2,29	1,64	2,92	7,64	14,53	26,13	13,84	3,00	0,09	1,24	2,98	0,03	1,46	0,34	1,63	3,37	6,13
Femur 1, Tag 20	37,87	0,15	0,00	0,00	0,65	50,53	5,46	1,56	0,95	0,00	0,25	0,25	0,15	1,02	0,00	0,00	0,33	0,84
Femur 1, Tag 24	33,67	0,22	0,00	0,00	0,58	53,12	6,14	1,86	1,15	0,00	0,36	0,33	0,11	1,07	0,00	0,00	0,36	1,04
Femur 1, Tag 28	39,10	0,15	0,00	0,31	0,00	55,64	4,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,31	0,00	0,00	0,00	0,00
Femur 1, Tag 32	42,89	0,00	0,00	0,00	0,00	56,86	0,25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Femur 2, Tag 04	10,60	1,90	1,19	3,09	7,77	12,72	33,71	12,96	1,63	0,07	0,55	2,51	0,09	0,98	0,25	2,45	2,61	4,93
Femur 2, Tag 06	9,78	2,46	1,59	3,40	7,66	13,17	33,99	12,89	1,67	0,29	0,59	2,61	0,00	1,38	0,39	0,67	2,66	4,80
Femur 2, Tag 08	10,32	2,45	1,48	3,52	8,03	12,30	32,93	12,66	1,64	0,08	0,54	2,47	0,35	1,33	0,33	2,13	2,62	4,80

8. ANHANG

Probe	OH-pro	asp	thr	ser	glu	pro	gly	ala	val	met	ile	leu	tyr	phe	his	OH-lys	lys	arg
Femur 2, Tag 10	9,60	2,43	1,61	2,95	7,08	13,30	33,91	12,87	2,04	0,51	0,83	2,64	0,08	1,37	0,41	0,55	2,78	5,02
Femur 2, Tag 12	9,68	2,23	1,70	2,50	5,49	12,91	34,06	13,91	2,01	0,18	0,93	2,77	0,17	1,40	0,43	1,10	2,86	5,64
Femur 2, Tag 14	9,39	2,35	1,75	2,88	7,02	13,85	32,74	13,18	2,17	0,55	0,89	2,71	0,19	1,47	0,41	0,47	2,87	5,09
Femur 2, Tag 16	9,77	2,54	1,71	3,48	8,26	12,70	30,21	13,68	1,82	0,25	0,70	2,75	0,14	1,40	0,41	1,68	2,93	5,55
Femur 2, Tag 20	9,08	2,23	1,48	3,17	8,52	11,90	35,85	12,20	1,51	0,00	0,68	2,47	0,00	1,20	0,29	1,91	2,72	4,79
Femur 2, Tag 24	24,15	0,20	0,00	0,00	0,00	31,54	25,75	8,98	0,00	0,00	0,60	1,60	2,20	0,00	0,00	1,40	1,20	2,40
Femur 2, Tag 28	38,19	0,00	0,00	0,00	0,00	60,06	0,58	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,17	0,00	0,00	0,00	0,00
Femur 2, Tag 32	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Femur 3, Tag 04	10,10	1,92	1,04	3,00	7,52	12,34	35,51	13,08	1,71	0,10	0,42	2,45	0,49	0,93	0,29	2,07	2,50	4,52
Femur 3, Tag 06	10,28	1,75	0,98	2,87	7,45	12,60	35,57	13,11	1,57	0,10	0,48	2,57	0,27	0,74	0,23	2,54	2,20	4,70
Femur 3, Tag 08	10,45	2,55	1,63	3,61	8,14	12,42	32,13	12,84	1,68	0,06	0,53	2,49	0,21	1,35	0,34	2,06	2,69	4,82
Femur 3, Tag 10	11,26	1,37	0,72	2,44	7,20	13,20	35,57	13,45	1,50	0,05	0,46	2,49	0,19	0,30	0,16	2,25	2,62	4,77
Femur 3, Tag 12	15,14	0,55	0,12	0,73	5,00	17,82	32,93	13,56	1,85	0,00	0,59	2,46	0,04	0,24	0,03	2,27	2,39	4,28
Femur 3, Tag 14	10,89	2,03	1,10	3,10	8,10	13,75	32,75	13,62	1,70	0,11	0,50	2,66	0,43	1,13	0,24	0,67	2,79	4,44
Femur 3, Tag 16	10,46	2,61	1,38	3,62	8,05	12,91	33,48	13,11	1,62	0,10	0,45	2,42	0,26	1,27	0,31	0,71	2,63	4,61
Femur 3, Tag 20	11,67	1,67	0,95	2,70	7,57	13,95	33,48	13,79	1,71	0,05	0,57	2,41	0,17	0,48	0,15	0,74	3,00	4,95
Femur 3, Tag 24	14,68	0,68	0,18	0,92	5,48	17,32	31,04	15,01	1,70	0,02	0,59	2,45	0,27	0,24	0,05	1,80	2,90	4,66
Femur 3, Tag 28	38,17	0,19	0,00	0,00	1,12	44,25	8,09	3,24	0,80	0,00	0,15	0,28	0,44	1,23	0,00	0,30	0,40	1,33
Femur 3, Tag 32	13,81	0,58	0,12	0,63	4,91	16,81	34,95	14,39	1,75	0,00	0,58	2,47	0,07	0,07	0,09	2,28	2,56	3,93
Femur 1 Kontrolle (aerob)	9,47	3,04	1,86	3,27	8,01	12,40	33,13	11,78	2,62	0,21	1,07	2,69	0,36	1,40	0,45	0,49	2,73	5,03
Femur 2 Kontrolle (aerob)	9,31	2,76	1,67	2,89	7,26	12,85	34,19	12,23	2,65	0,14	1,08	2,68	0,17	1,44	0,44	0,36	2,78	5,09
Femur 3 Kontrolle (aerob)	9,55	2,32	1,40	2,84	6,93	11,87	31,13	10,83	10,83	0,08	0,89	2,49	0,00	1,22	0,31	0,42	2,61	4,29
Femur 1 <i>Pseudomonas fluorescens</i>	9,85	2,98	1,79	3,31	7,96	12,15	33,48	11,81	2,55	0,06	1,05	2,68	0,31	1,32	0,44	0,46	2,74	5,05
Femur 2 <i>Pseudomonas fluorescens</i>	9,39	3,06	1,74	3,22	7,96	12,40	32,85	11,79	2,64	0,61	1,08	2,69	0,38	1,43	0,47	0,54	2,74	5,00
Femur 3 <i>Pseudomonas fluorescens</i>	10,22	2,76	1,62	3,16	7,85	12,70	33,54	12,06	2,51	0,08	1,03	2,63	0,00	1,27	0,33	0,45	2,72	5,05
Femur 1 <i>Streptomyces griseus</i>	9,79	2,82	1,71	3,16	7,58	12,76	33,65	11,98	2,64	0,09	1,10	2,80	0,01	1,34	0,42	0,41	2,78	4,97
Femur 2 <i>Streptomyces griseus</i>	9,51	3,03	1,88	3,21	7,79	12,40	33,13	11,71	2,66	0,24	1,11	2,76	0,40	1,38	0,50	0,47	2,71	5,10
Femur 3 <i>Streptomyces griseus</i>	9,64	2,74	1,72	2,99	7,08	12,70	33,95	12,19	2,56	0,11	1,10	2,79	0,24	1,47	0,45	0,41	2,76	5,09
Femur 1 Kontrolle (anaerob)	9,76	2,89	1,75	3,27	7,52	12,90	32,72	12,04	2,58	0,10	1,09	2,81	0,00	1,41	0,47	0,48	2,81	5,42
Femur 2 Kontrolle (anaerob)	9,84	2,92	1,71	3,19	7,52	12,60	32,84	11,78	2,68	0,09	1,13	2,80	0,38	1,41	0,48	0,44	2,79	5,40
Femur 3 Kontrolle (anaerob)	10,64	2,03	0,98	2,44	7,39	13,44	34,65	12,41	2,72	0,07	1,12	2,83	0,00	0,61	0,24	0,54	2,77	5,10
Femur 1 <i>Prevotella melaninogenica</i>	9,89	2,82	1,72	3,26	7,49	12,73	33,50	12,07	2,63	0,11	1,10	2,82	0,00	1,39	0,42	0,45	2,79	4,81
Femur 2 <i>Prevotella melaninogenica</i>	9,84	2,51	1,57	2,94	6,99	13,19	33,71	12,29	2,70	0,08	1,14	2,77	0,00	1,27	0,35	0,43	2,81	5,41
Femur 3 <i>Prevotella melaninogenica</i>	9,95	2,76	1,72	3,15	7,10	12,93	33,08	12,45	2,60	0,10	1,09	2,75	0,00	1,39	0,40	0,44	2,85	5,23
Femur 1 <i>Clostridium histolyticum</i>	9,86	3,01	1,79	3,29	7,52	12,70	32,54	12,02	2,64	0,08	1,09	2,73	0,37	1,41	0,46	0,48	2,89	5,13

8. ANHANG

Probe	OH-pro	asp	thr	ser	glu	pro	gly	ala	val	met	ile	leu	tyr	phe	his	OH-lys	lys	arg
Femur 2 <i>Clostridium histolyticum</i>	10,16	3,04	1,79	3,49	7,89	12,62	32,06	11,87	2,51	0,04	1,03	2,65	0,36	1,40	0,45	0,53	2,80	5,34
Femur 3 <i>Clostridium histolyticum</i>	9,89	2,91	1,74	3,24	7,55	12,65	32,83	11,99	2,66	0,07	1,11	2,71	0,27	1,39	0,46	0,49	2,75	5,30
Reh 1 frisch	9,61	1,90	1,68	2,23	4,22	13,97	35,66	13,39	2,41	0,15	1,25	2,91	0,03	1,43	0,37	0,32	2,75	5,73
Reh 3 frisch	8,25	0,40	1,41	0,65	0,00	16,90	36,66	16,09	2,82	0,22	1,55	3,18	0,00	1,65	0,39	0,00	3,06	6,78
Reh 5 frisch	9,60	1,69	1,82	1,95	2,00	15,30	36,77	14,77	1,91	0,38	0,67	2,65	0,00	1,49	0,37	0,13	2,84	5,65
Reh 7 frisch	9,76	2,37	1,92	2,73	6,17	13,48	34,09	12,63	2,04	0,55	1,08	2,75	0,27	1,42	0,38	0,56	2,60	5,19
Reh 9 frisch	9,62	2,50	1,88	2,96	7,59	13,08	33,34	12,02	2,23	0,61	1,12	2,65	0,30	1,35	0,39	0,75	2,52	5,09
Reh 1, 72 Tage	9,87	2,23	1,91	2,53	5,20	13,73	34,53	12,91	2,26	0,40	1,21	2,78	0,24	1,45	0,37	0,45	2,60	5,35
Reh 1, 178 Tage	9,34	0,56	1,34	0,73	0,00	17,14	37,27	16,30	2,80	0,06	0,88	2,59	0,00	1,47	0,32	0,03	2,86	6,30
Reh 3, 72 Tage	8,84	1,52	1,88	1,34	0,60	15,23	36,70	15,23	2,46	0,43	1,33	2,97	0,39	1,58	0,38	0,05	2,90	6,17
Reh 3, 178 Tage	9,93	2,38	1,93	2,77	5,87	13,80	34,69	12,87	2,00	0,42	0,91	2,75	0,00	1,45	0,41	0,34	2,46	5,01
Reh 5, 72 Tage	9,94	2,55	2,10	3,05	6,64	12,95	34,09	12,17	1,87	0,42	0,97	2,86	0,36	1,42	0,40	0,49	2,42	5,31
Reh 5, 178 Tage	9,04	1,05	1,81	1,27	0,35	16,30	36,33	15,55	2,68	0,46	0,88	2,73	0,40	1,63	0,42	0,04	2,95	6,10
Reh 7, 51 Tage	9,26	1,87	1,88	2,01	3,59	14,50	35,50	13,81	2,44	0,53	0,96	2,66	0,40	1,51	0,38	0,18	2,91	5,61
Reh 7, 157 Tage	9,67	1,96	1,46	2,65	6,84	12,85	31,97	11,60	1,69	0,11	0,83	2,64	0,00	1,26	0,27	0,56	2,41	11,23
Reh 9, 51 Tage	9,89	2,18	1,75	2,60	6,34	13,37	34,55	12,65	2,18	0,20	1,15	2,79	0,03	1,38	0,33	0,48	2,66	5,46
Reh 9, 157 Tage	8,72	0,85	1,67	1,10	0,34	16,37	37,69	16,08	2,68	0,34	0,80	2,61	0,00	1,59	0,38	0,05	2,78	5,96

Tabelle 8.8 Ergebnisse der Aminosäureanalyse: nicht-proteinogene Aminosäuren und Dipeptide, dargestellt in nmol %. Die Gesamtaminosäurekonzentration ist angegeben als nmol/mg Knochenpulver.

Probe	tau	car	cys2	P-ser	p-EtOHa	aaaa	aaba	trp	bala	gaba	baba	1-M-His	orn	urea	NH4	AS-Gehalt
WF 01	0,00	0,13	0,00	0,02	0,00	0,05	0,00	0,09	0,00	0,39	0,00	0,00	0,05	0,00	2,07	2854
WF 02	0,00	0,79	0,05	0,00	0,00	0,13	0,00	0,09	0,00	0,34	0,00	0,00	0,00	0,00	1,84	3178
WF 03	0,00	0,51	0,11	0,06	0,00	0,13	0,00	0,11	0,00	0,69	0,00	0,00	0,07	0,00	2,92	2935
WF 04	0,00	0,29	0,22	0,00	0,00	0,07	0,00	0,15	0,00	0,57	0,33	0,00	0,09	0,00	2,21	855
WF 05	0,00	0,03	0,31	0,00	0,00	0,09	0,00	0,24	0,00	0,70	0,50	0,00	0,13	0,00	2,87	2366
WF 06	0,00	0,37	0,05	0,00	0,00	0,07	0,00	0,00	0,00	0,25	0,00	0,00	0,00	0,00	1,92	2106
WF 08b	0,00	0,13	0,34	0,04	0,00	0,08	0,00	0,32	0,29	0,80	0,31	0,00	0,16	0,00	2,50	1278
WF 09	0,00	0,35	0,28	0,00	0,00	0,05	0,00	0,21	0,00	0,66	0,55	0,00	0,15	0,00	2,89	2024
WF 10	0,00	0,33	0,09	0,00	0,00	0,12	0,00	0,07	0,00	0,35	0,00	0,00	0,04	0,00	2,02	1472

8. ANHANG

Probe	tau	car	cys2	P-ser	p- EtOHa	aaaa	aaba	trp	bala	gaba	baba	1-M- His	orn	urea	NH4	AS- Gehalt
WF 11	0,02	0,74	0,15	0,03	0,00	0,07	0,00	0,15	0,00	0,61	0,66	0,00	0,14	0,52	17,05	1533
WF 12	0,00	0,18	0,18	0,02	0,00	0,00	0,00	0,18	0,32	0,47	0,00	0,00	0,06	0,00	2,09	2048
WF 13	0,00	0,80	0,01	0,00	0,00	0,09	0,00	0,00	0,00	0,27	0,00	0,00	0,03	0,00	1,74	748
WF 14a	0,05	0,98	0,00	0,00	0,00	0,14	0,00	0,04	0,00	0,26	0,00	0,00	0,00	0,00	2,05	1138
WF 14b	0,00	0,56	0,27	0,00	0,00	0,12	0,00	0,26	0,00	0,61	0,83	0,00	0,19	0,00	1,63	831
WF 15	0,00	0,31	0,00	0,00	0,00	0,07	0,00	0,00	0,00	0,33	0,00	0,00	0,00	0,00	2,12	3123
WF 16	0,01	0,12	0,21	0,01	0,00	0,07	0,00	0,16	0,28	0,40	0,00	0,00	0,05	0,00	16,26	337
WF 17	0,01	0,21	0,00	0,01	0,00	0,04	0,00	0,00	0,18	0,19	0,05	0,00	0,01	0,00	3,66	1686
WF 18	0,01	0,11	0,66	0,01	0,00	0,09	0,19	0,26	0,00	0,79	0,96	0,00	0,18	0,00	2,48	1709
WF 19	0,01	0,49	0,19	0,03	0,00	0,12	0,00	0,08	0,39	0,51	0,06	0,00	0,07	0,00	1,88	2531
WF 20b	0,02	1,05	0,00	0,09	0,00	0,05	0,00	0,05	0,45	0,35	0,21	0,00	0,04	0,00	1,10	2023
WF 21a	0,01	0,20	0,07	0,04	0,00	0,05	0,00	0,02	0,27	0,49	0,04	0,00	0,03	0,00	2,28	2220
WF 22	0,01	0,20	0,23	0,05	0,00	0,07	0,00	0,06	0,47	0,65	0,05	0,00	0,08	0,00	2,50	1455
WF 24	0,01	0,49	0,00	0,02	0,00	0,11	0,00	0,00	0,18	0,19	0,07	0,00	0,01	0,00	2,08	4398
WF 25	0,01	0,43	0,10	0,02	0,00	0,12	0,00	0,02	0,27	0,28	0,05	0,00	0,04	0,00	2,34	1596
WF 26	0,02	0,28	0,21	0,02	0,00	0,10	0,00	0,08	0,00	0,45	0,05	0,00	0,08	0,00	2,25	2733
WF 27	0,01	0,11	0,01	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,12	0,17	0,00	0,00	0,01	0,00	1,87	3093
WF 28	0,00	0,76	0,00	0,08	0,00	0,03	0,00	0,00	0,25	0,28	0,40	0,00	0,07	0,00	2,80	2115
WF 29b	0,01	0,14	0,35	0,01	0,00	0,10	0,06	0,14	0,00	0,52	0,45	0,00	0,09	0,00	2,38	2769
WF 30	0,00	0,13	0,50	0,07	0,00	0,00	0,00	0,31	0,00	0,69	0,70	0,00	0,16	0,00	3,84	1827
WF 31	0,01	0,19	0,00	0,02	0,00	0,05	0,00	0,00	0,17	0,19	0,00	0,00	0,02	0,00	2,05	3599
WF 33	0,01	0,24	0,04	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,12	0,00	0,00	0,02	0,00	1,81	4387
WF 34	0,01	0,38	0,02	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,17	0,00	0,00	0,04	0,00	1,69	3446
WF 36	0,00	1,40	0,00	0,04	0,00	0,14	0,00	0,00	0,00	0,25	0,00	0,00	0,03	0,00	1,92	2231
WF 37	0,06	0,42	0,00	0,04	0,00	0,06	0,00	0,00	0,00	0,33	0,00	0,00	0,03	0,00	1,99	3805
WF 39b	0,00	1,20	0,00	0,04	0,00	0,14	0,00	0,00	0,00	0,11	0,00	0,00	0,04	0,00	1,73	3279
WF 40b	0,00	0,76	0,00	0,13	0,00	0,07	0,00	0,00	0,00	0,22	0,00	0,00	0,04	0,00	2,14	2818
WF 41	0,00	0,41	0,00	0,02	0,00	0,06	0,00	0,00	0,00	0,11	0,00	0,00	0,02	0,00	1,72	6034
WF 42a	0,00	0,55	0,03	0,04	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00	0,32	0,14	0,00	0,00	0,00	1,95	2624
WF 42b	0,00	0,35	0,03	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,11	0,00	0,00	0,04	0,00	1,84	2966
WF 43	0,00	0,22	0,03	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,08	0,25	0,00	0,02	0,00	2,08	2588
WF 44	0,00	0,00	0,00	0,03	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,13	0,10	0,00	0,04	0,00	1,51	3835
WF 45	0,01	0,95	0,02	0,02	0,00	0,14	0,00	0,00	0,00	0,13	0,15	0,00	0,01	0,00	1,95	7053
WF 46	0,00	0,97	0,00	0,10	0,00	0,07	0,00	0,17	0,10	0,10	0,00	0,00	0,00	0,00	2,14	3972
WF 47	0,00	0,04	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,08	0,00	0,00	0,00	0,00	1,81	5651

8. ANHANG

Probe	tau	car	cys2	P-ser	p- EtOHa	aaaa	aaba	trp	bala	gaba	baba	1-M- His	orn	urea	NH4	AS- Gehalt
WF 48	0,07	0,21	0,02	0,14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,38	0,00	0,00	0,04	0,00	2,91	3108
WF 49b	0,00	0,25	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,11	0,00	0,00	0,02	0,00	1,93	4159
WF 50	0,00	1,18	0,00	0,03	0,00	0,12	0,00	0,00	0,00	0,12	0,00	0,00	0,00	0,00	1,99	2707
WF 51	0,00	1,01	0,00	0,02	0,00	0,13	0,00	0,00	0,00	0,12	0,00	0,00	0,00	0,00	1,82	3298
WF 52	0,00	0,09	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,13	0,00	0,00	0,00	0,00	1,99	4533
WF 53	0,00	1,11	0,00	0,04	0,00	0,12	0,00	0,00	0,00	0,12	0,00	0,00	0,03	0,00	1,75	3363
Alt 1	0,02	1,81	0,00	0,15	0,00	0,04	0,00	0,04	0,00	0,33	0,00	0,00	0,04	0,00	1,01	1437
Alt 220	0,02	2,16	0,00	0,04	0,00	0,08	0,00	0,05	0,00	0,11	0,00	0,00	0,05	0,00	1,42	2324
Alt 240	0,01	0,14	0,02	0,13	0,00	0,00	0,00	0,01	0,02	0,35	0,02	0,00	0,03	0,00	1,95	4012
Alt 64	0,01	1,83	0,00	0,04	0,00	0,07	0,00	0,06	0,00	0,13	0,00	0,06	0,04	0,00	1,26	1990
Alt 93	0,00	0,22	0,04	0,14	0,00	0,00	0,00	0,01	0,02	0,25	0,04	0,00	0,02	0,00	1,84	3067
MP 54	0,01	1,02	0,00	0,04	0,00	0,10	0,00	0,00	0,00	0,18	0,00	0,00	0,06	0,00	3,79	980
MP 59	0,01	2,32	0,00	0,05	0,00	0,06	0,00	0,10	0,00	0,12	0,00	0,00	0,07	0,00	0,67	1448
MP 68	0,00	2,64	0,00	0,09	0,00	0,06	0,00	0,08	0,00	0,48	0,00	0,00	0,05	0,00	0,66	3153
SB 626	0,02	2,85	0,00	0,07	0,00	0,07	0,00	0,11	0,08	0,51	0,00	0,00	0,04	0,00	1,44	3759
SB 664	0,01	0,72	0,01	0,04	0,00	0,08	0,00	0,00	0,42	0,00	0,00	0,00	0,03	0,00	1,42	5283
BW 12	0,00	0,51	0,05	0,09	0,00	0,06	0,00	0,00	0,10	0,28	0,09	0,00	0,04	0,00	2,21	1019
BW 3	0,23	0,32	0,05	0,03	0,00	0,00	0,00	0,02	0,11	0,16	0,07	0,00	0,03	0,00	2,34	523
BW 14	0,03	0,70	0,08	0,08	0,00	0,00	0,00	0,02	0,21	0,33	0,14	0,00	0,08	0,00	2,44	300
BW 9	0,05	0,81	0,08	0,01	0,00	0,04	0,00	0,01	0,13	0,20	0,14	0,00	0,09	0,00	3,05	179
BW 10	0,01	0,68	0,03	0,05	0,00	0,10	0,00	0,00	0,08	0,17	0,11	0,00	0,04	0,00	1,98	1569
MWL 55	0,02	2,98	0,05	0,05	0,00	0,04	0,14	0,15	0,12	0,13	0,00	0,00	0,06	0,00	1,06	2479
MWL 137	0,01	0,75	0,06	0,14	0,00	0,00	0,00	0,33	0,00	0,13	0,00	0,00	0,06	0,00	2,39	998
MWL 193	0,02	2,81	0,04	0,07	0,00	0,05	0,00	0,13	0,06	0,47	0,00	0,00	0,04	0,00	1,28	4845
MWL 251	0,01	1,76	0,00	0,14	0,00	0,06	0,00	0,25	0,00	0,10	0,00	0,00	0,05	0,00	1,77	2238
MWL 408	0,01	0,48	0,03	0,13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,18	0,32	0,10	0,00	0,05	0,00	4,70	4030
OTZ 1	0,01	1,37	0,04	0,10	0,00	0,07	0,00	0,00	0,15	0,22	0,00	0,00	0,06	0,00	3,21	4487
KE 145	0,02	3,40	0,00	0,07	0,00	0,00	0,00	0,14	0,27	0,13	0,00	0,00	0,03	0,00	1,97	1400
KE 150	0,02	0,32	0,01	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,18	0,44	0,05	0,00	0,03	0,00	2,14	4689
KE 161	0,01	1,97	0,00	0,02	0,00	0,11	0,00	0,05	0,04	0,12	0,00	0,00	0,01	0,00	1,47	2562
KE 174	0,01	0,67	0,03	0,14	0,00	0,09	0,00	0,00	0,18	0,33	0,22	0,00	0,02	0,00	2,49	3372
KE 192	0,02	1,58	0,00	0,02	0,00	0,14	0,00	0,05	0,16	0,19	0,09	0,00	0,04	0,00	2,10	4337
MG 1087	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0
MG 1340	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0
FH 3419	0,01	0,29	0,05	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,16	0,22	0,06	0,00	0,07	0,00	1,99	1446

8. ANHANG

Probe	tau	car	cys2	P-ser	p- EtOHa	aaaa	aaba	trp	bala	gaba	baba	1-M- His	orn	urea	NH4	AS- Gehalt
FH 3520	0,01	0,58	0,09	0,04	0,00	0,05	0,00	0,01	0,18	0,17	0,14	0,00	0,09	0,00	2,02	1616
BrA 10	0,01	0,21	0,14	0,08	0,00	0,00	0,00	0,04	0,19	0,39	0,04	0,01	0,09	0,00	1,80	517
BrA 11	0,01	0,07	0,07	0,10	0,00	0,00	0,00	0,02	0,14	0,23	0,02	0,01	0,08	0,00	1,42	403
BrA 12	0,00	0,09	0,14	0,04	0,00	0,00	0,00	0,02	0,16	0,23	0,02	0,00	0,09	0,00	1,45	787
BrA 3	0,01	0,07	0,07	0,10	0,00	0,00	0,00	0,02	0,14	0,23	0,02	0,01	0,08	0,00	1,42	722
BrA 7	0,00	0,11	0,09	0,06	0,00	0,02	0,00	0,02	0,17	0,25	0,02	0,00	0,09	0,00	1,41	1585
Femur 1, frisch	0,01	0,99	0,00	0,06	0,00	0,00	0,00	0,06	0,06	0,05	0,08	0,00	0,02	0,00	2,46	3947
Femur 2, frisch	0,01	0,73	0,02	0,16	0,00	0,12	0,00	0,02	0,02	0,46	0,11	0,00	0,03	0,00	1,53	1598
Femur 3, frisch	0,01	0,03	0,13	0,06	0,00	0,00	0,00	0,05	0,18	0,41	0,02	0,00	0,05	0,00	2,45	3947
Femur 1, Tag 04	0,01	0,06	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,03	0,07	0,00	0,03	0,00	4,86	4347
Femur 1, Tag 06	0,01	2,11	0,11	0,13	0,00	0,07	0,00	0,13	0,05	0,51	0,34	0,00	0,05	0,00	2,57	3601
Femur 1, Tag 08	0,00	0,63	0,03	0,04	0,00	0,08	0,00	0,01	0,00	0,13	0,10	0,00	0,04	0,00	1,60	3852
Femur 1, Tag 10	0,01	1,20	0,00	0,06	0,00	0,05	0,00	0,01	0,02	0,05	0,08	0,00	0,07	0,00	2,85	351
Femur 1, Tag 12	0,00	0,58	0,01	0,08	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,11	0,07	0,00	0,06	0,00	1,77	2406
Femur 1, Tag 14	0,03	0,00	0,00	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,17	0,00	0,00	0,00	0,00	2,89	17
Femur 1, Tag 16	0,00	0,74	0,00	0,14	0,00	0,10	0,00	0,02	0,03	0,50	0,10	0,01	0,08	0,00	1,89	18
Femur 1, Tag 20	0,00	0,00	0,00	0,07	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,13	0,00	0,03	1,81	7,55	2
Femur 1, Tag 24	0,00	0,00	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,23	0,08	0,00	0,05	0,00	7,89	5
Femur 1, Tag 28	0,00	0,00	0,00	0,06	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	0,00	0,00	0,00	59,66	3,09	8062
Femur 1, Tag 32	0,00	0,00	0,00	0,20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	12,12	5,25	8359
Femur 2, Tag 04	0,01	0,11	0,05	0,05	0,00	0,00	0,00	0,02	0,14	0,28	0,14	0,00	0,03	0,00	2,28	5163
Femur 2, Tag 06	0,02	0,17	0,06	0,02	0,00	0,00	0,00	0,01	0,18	0,21	0,04	0,00	0,03	0,00	2,15	4044
Femur 2, Tag 08	0,00	0,05	0,06	0,04	0,00	0,00	0,00	0,02	0,12	0,22	0,00	0,00	0,04	0,00	1,84	5491
Femur 2, Tag 10	0,01	0,47	0,00	0,02	0,00	0,04	0,00	0,00	0,09	0,14	0,09	0,00	0,03	0,00	2,12	3652
Femur 2, Tag 12	0,00	0,29	0,00	0,02	0,00	0,11	0,00	0,02	0,06	0,03	0,02	0,00	0,05	0,00	2,16	3931
Femur 2, Tag 14	0,01	0,80	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,14	0,14	0,16	0,00	0,05	0,00	1,92	2675
Femur 2, Tag 16	0,00	0,14	0,01	0,02	0,00	0,08	0,00	0,01	0,11	0,11	0,00	0,00	0,05	0,00	1,90	100
Femur 2, Tag 20	0,03	0,00	0,00	0,09	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,27	0,00	0,01	0,04	0,00	2,80	6
Femur 2, Tag 24	0,00	0,00	0,00	0,53	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	11,73	1
Femur 2, Tag 28	0,00	0,00	0,00	0,26	0,00	0,00	0,00	0,00	0,53	0,26	0,00	0,00	0,00	0,00	8,68	0
Femur 2, Tag 32	0,00	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4195
Femur 3, Tag 04	0,01	0,03	0,13	0,04	0,00	0,01	0,00	0,06	0,21	0,53	0,02	0,00	0,07	0,00	2,34	3749
Femur 3, Tag 06	0,01	0,15	0,09	0,05	0,00	0,00	0,00	0,04	0,23	0,31	0,03	0,00	0,06	0,47	2,57	3660
Femur 3, Tag 08	0,00	0,05	0,06	0,01	0,00	0,00	0,00	0,02	0,13	0,23	0,00	0,00	0,05	0,00	1,77	4181
Femur 3, Tag 10	0,01	0,28	0,03	0,04	0,00	0,00	0,00	0,05	0,44	0,23	0,00	0,00	0,06	0,00	3,08	3702

8. ANHANG

Probe	tau	car	cys2	P-ser	p- EtOHa	aaaa	aaba	trp	bala	gaba	baba	1-M- His	orn	urea	NH4	AS- Gehalt
Femur 3, Tag 12	0,01	0,11	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00	0,12	0,05	0,00	0,07	0,00	3,25	3002
Femur 3, Tag 14	0,00	0,17	0,14	0,07	0,00	0,00	0,00	0,02	0,31	0,32	0,04	0,00	0,09	0,00	2,38	3539
Femur 3, Tag 16	0,00	0,03	0,13	0,02	0,00	0,00	0,00	0,03	0,17	0,29	0,01	0,01	0,08	0,00	2,10	2334
Femur 3, Tag 20	0,01	0,34	0,04	0,06	0,00	0,00	0,00	0,01	0,25	0,15	0,02	0,00	0,09	0,00	2,72	331
Femur 3, Tag 24	0,01	0,38	0,00	0,06	0,00	0,00	0,00	0,03	0,06	0,11	0,05	0,04	0,08	0,00	5,00	49
Femur 3, Tag 28	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,21	0,00	0,02	3,81	6,86	45
Femur 3, Tag 32	0,00	0,18	0,00	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,20	0,00	0,20	0,04	0,00	14,26	0
Femur 1 Kontrolle (aerob)	0,01	0,32	0,07	0,02	0,00	0,00	0,00	0,01	0,01	0,09	0,07	0,00	0,02	0,00	2,35	6096
Femur 2 Kontrolle (aerob)	0,01	0,63	0,04	0,15	0,00	0,08	0,00	0,02	0,03	0,39	0,11	0,00	0,03	0,00	2,45	6152
Femur 3 Kontrolle (aerob)	0,01	0,00	0,04	0,11	0,00	0,00	0,00	0,12	0,00	0,35	0,03	0,00	0,03	0,00	2,50	3803
Femur 1 <i>Pseudomonas fluorescens</i>	0,01	0,19	0,03	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,08	0,03	0,00	0,03	0,00	2,45	4214
Femur 2 <i>Pseudomonas fluorescens</i>	0,01	0,45	0,08	0,02	0,00	0,00	0,01	0,00	0,02	0,12	0,10	0,00	0,04	0,00	2,66	6271
Femur 3 <i>Pseudomonas fluorescens</i>	0,01	0,21	0,04	0,06	0,00	0,00	0,00	0,01	0,07	0,34	0,04	0,00	0,00	0,00	2,73	4096
Femur 1 <i>Streptomyces griseus</i>	0,01	0,34	0,03	0,06	0,00	0,04	0,00	0,01	0,06	0,35	0,06	0,00	0,03	0,00	2,74	6375
Femur 2 <i>Streptomyces griseus</i>	0,01	0,27	0,05	0,02	0,00	0,00	0,00	0,01	0,01	0,09	0,00	0,00	0,05	0,00	2,22	6375
Femur 3 <i>S. griseus</i>	0,01	0,57	0,03	0,12	0,00	0,09	0,00	0,02	0,02	0,29	0,10	0,00	0,03	0,00	3,90	5302
Femur 1 Kontrolle (anaerob)	0,01	0,35	0,03	0,08	0,00	0,06	0,00	0,02	0,02	0,52	0,07	0,00	0,04	0,00	2,63	7530
Femur 2 Kontrolle (anaerob)	0,01	0,29	0,04	0,05	0,00	0,02	0,00	0,01	0,01	0,11	0,05	0,00	0,04	0,00	2,48	6828
Femur 3 Kontrolle (anaerob)	0,01	0,53	0,02	0,06	0,00	0,00	0,00	0,02	0,15	0,06	0,05	0,00	0,03	0,00	3,35	5427
Femur 1 <i>P. melaninogenica</i>	0,01	0,26	0,03	0,05	0,00	0,05	0,00	0,01	0,06	0,40	0,00	0,00	0,03	0,00	2,46	7808
Femur 2 <i>P. melaninogenica</i>	0,01	0,42	0,01	0,16	0,00	0,07	0,00	0,01	0,08	0,37	0,08	0,00	0,04	0,00	2,66	5974
Femur 3 <i>P. melaninogenica</i>	0,01	0,48	0,02	0,06	0,00	0,11	0,00	0,01	0,03	0,53	0,08	0,00	0,04	0,00	2,43	6292
Femur 1 <i>C. histolyticum</i>	0,01	0,28	0,03	0,05	0,00	0,04	0,00	0,02	0,00	0,10	0,05	0,00	0,03	0,00	2,78	7708
Femur 2 <i>C. histolyticum</i>	0,00	0,04	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,06	0,00	0,00	0,03	0,00	2,18	7202
Femur 3 <i>C. histolyticum</i>	0,01	0,25	0,02	0,05	0,00	0,04	0,00	0,02	0,01	0,22	0,05	0,00	0,04	0,00	2,37	7045
Reh 1 frisch	0,01	1,42	0,00	0,12	0,00	0,13	0,00	0,02	0,00	0,51	0,00	0,00	0,03	0,00	1,61	6055
Reh 3 frisch	0,01	2,87	0,00	0,09	0,00	0,00	0,00	0,19	0,00	0,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,81	3214
Reh 5 frisch	0,01	1,75	0,00	0,02	0,00	0,12	0,00	0,05	0,00	0,15	0,00	0,00	0,03	0,00	1,42	4373
Reh 7 frisch	0,01	0,98	0,00	0,02	0,00	0,12	0,00	0,00	0,06	0,11	0,00	0,00	0,02	0,00	2,11	6693
Reh 9 frisch	0,01	0,64	0,00	0,02	0,00	0,07	0,00	0,00	0,05	0,12	0,00	0,00	0,02	0,00	2,07	5971
Reh 1, 72 Tage	0,01	1,01	0,00	0,03	0,00	0,14	0,00	0,01	0,00	0,08	0,00	0,00	0,02	0,00	1,45	5309
Reh 1, 178 Tage	0,01	2,61	0,00	0,19	0,00	0,03	0,00	0,17	0,11	0,50	0,00	0,00	0,05	0,00	0,91	4990
Reh 3, 72 Tage	0,01	2,42	0,00	0,02	0,00	0,06	0,00	0,09	0,07	0,09	0,00	0,00	0,04	0,00	0,63	3495
Reh 3, 178 Tage	0,01	0,92	0,00	0,04	0,00	0,11	0,00	0,00	0,00	0,26	0,00	0,00	0,01	0,00	1,92	5374
Reh 5, 72 Tage	0,01	0,77	0,00	0,02	0,00	0,10	0,00	0,00	0,07	0,12	0,00	0,00	0,02	0,00	1,67	3613

8. ANHANG

Probe	tau	car	cys2	P-ser	p- EtOHa	aaaa	aaba	trp	bala	gaba	baba	1-M- His	orn	urea	NH4	AS- Gehalt
Reh 5, 178 Tage	0,02	2,28	0,00	0,03	0,00	0,07	0,00	0,11	0,00	0,10	0,00	0,00	0,04	0,00	1,04	3956
Reh 7, 51 Tage	0,01	1,52	0,00	0,02	0,00	0,15	0,00	0,03	0,00	0,08	0,00	0,00	0,03	0,00	1,25	5487
Reh 7, 157 Tage	0,01	0,49	0,00	0,13	0,00	0,05	0,00	0,00	0,10	0,38	0,00	0,00	0,02	0,00	2,43	6997
Reh 9, 51 Tage	0,01	0,92	0,00	0,09	0,00	0,10	0,00	0,01	0,00	0,51	0,00	0,00	0,02	0,00	1,91	5518
Reh 9, 157 Tage	0,02	2,39	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00	0,13	0,00	0,41	0,00	0,00	0,04	0,00	0,60	3562

Tabelle 8.9 Zusammenfassung der Minima, Maxima, Standardabweichung und Mediane (Mittelwert bei den 3 frischen humanen Knochen) für alle Aminosäuren in den Probenkollektiven [nmol%].

		OH-pro	asp	thr	ser	glu	pro	gly	ala	val	met	ile	leu	tyr	phe	his	OH-lys	lys	arg
frische Knochen	Min	9,27	1,14	0,34	1,20	6,30	11,95	33,74	12,49	1,61	0,07	0,42	2,39	0,03	0,00	0,09	1,58	2,50	4,59
	Max	11,76	2,35	1,64	3,47	7,74	15,15	34,78	12,83	2,69	0,11	1,14	2,72	0,28	1,39	0,36	2,59	2,88	5,50
	2σ	1,06	0,55	0,55	0,94	0,62	1,34	0,42	0,15	0,50	0,02	0,32	0,14	0,12	0,64	0,12	0,42	0,16	0,38
	\bar{x}	10,29	1,92	1,09	2,46	6,87	13,34	34,25	12,71	2,32	0,09	0,87	2,57	0,12	0,90	0,25	2,14	2,71	5,09
Westfriedhof	Min	7,61	1,38	0,72	2,00	1,95	10,29	32,41	11,47	1,41	0,07	0,00	1,92	0,00	0,61	0,23	0,27	2,09	0,47
	Max	10,51	2,69	1,80	3,68	7,77	14,62	44,06	15,45	2,85	0,53	1,22	2,88	1,66	1,41	0,52	2,11	3,04	5,60
	2σ	0,73	0,30	0,28	0,46	1,47	0,94	2,84	0,95	0,45	0,13	0,36	0,19	0,42	0,21	0,07	0,43	0,23	0,78
	\bar{x}	9,51	2,38	1,32	3,20	6,40	12,65	35,87	12,94	1,77	0,33	0,44	2,46	0,30	1,21	0,39	1,45	2,68	4,82
archäol. Knochen	Min	7,45	0,42	0,57	0,43	0,10	11,80	29,14	11,88	1,56	0,03	0,44	2,29	0,00	0,11	0,03	0,01	2,51	4,65
	Max	11,01	2,82	1,86	3,62	8,29	18,25	37,65	16,99	3,47	0,55	1,65	3,16	0,43	1,60	0,49	2,32	3,30	11,98
	2σ	0,90	0,54	0,26	0,90	2,95	1,20	2,55	1,32	0,55	0,14	0,32	0,20	0,09	0,28	0,09	0,74	0,22	1,22
	\bar{x}	9,46	2,27	1,55	2,86	7,06	13,49	34,85	13,31	2,29	0,26	0,90	2,73	0,02	1,36	0,30	0,42	2,87	5,22
frische Rehknochen	Min	8,25	0,40	1,41	0,65	0,00	13,08	33,34	12,02	1,91	0,15	0,67	2,65	0,00	1,35	0,37	0,00	2,52	5,09
	Max	9,76	2,50	1,92	2,96	7,59	16,90	36,77	16,09	2,82	0,61	1,55	3,18	0,30	1,65	0,39	0,75	3,06	6,78
	2σ	0,56	0,75	0,19	0,81	2,74	1,40	1,38	1,48	0,32	0,18	0,29	0,20	0,14	0,10	0,01	0,28	0,19	0,60
	\bar{x}	9,61	1,90	1,82	2,23	4,22	13,97	35,66	13,39	2,23	0,38	1,12	2,75	0,03	1,43	0,38	0,32	2,75	5,65
Rehknochen	Min	8,72	0,56	1,34	0,73	0,00	12,85	31,97	11,60	1,69	0,06	0,80	2,59	0,00	1,26	0,27	0,03	2,41	5,01
	Max	9,94	2,55	2,10	3,05	6,84	17,14	37,69	16,30	2,80	0,53	1,33	2,97	0,40	1,63	0,42	0,56	2,95	11,23
	2σ	0,45	0,65	0,22	0,78	2,79	1,47	1,64	1,64	0,35	0,15	0,17	0,11	0,18	0,10	0,04	0,21	0,20	1,71
	\bar{x}	9,51	1,92	1,84	2,27	4,39	14,15	35,09	13,36	2,35	0,41	0,94	2,74	0,13	1,46	0,38	0,26	2,72	5,79

8. ANHANG

	OH-pro	asp	thr	ser	glu	pro	gly	ala	val	met	ile	leu	tyr	phe	his	OH-lys	lys	arg	
exp. chem. Degrad.	<i>Min</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	<i>Max</i>	43,28	2,61	1,83	3,62	8,52	60,06	37,22	15,01	3,05	0,55	1,24	2,98	2,20	1,48	0,43	2,54	3,37	6,13
	2σ	12,07	0,98	0,71	1,41	3,31	16,92	13,00	5,37	0,88	0,15	0,35	1,07	0,38	0,52	0,16	0,90	1,15	2,02
	\tilde{x}	10,75	1,75	0,98	2,46	7,02	13,85	32,74	12,89	1,68	0,06	0,57	2,47	0,14	1,02	0,23	1,40	2,62	4,70
exp. Bakt. Degradation	<i>Min</i>	9,31	2,03	0,98	2,44	6,93	11,87	31,13	10,83	2,51	0,04	0,89	2,49	0,00	0,61	0,24	0,36	2,61	4,29
	<i>Max</i>	10,64	3,06	1,88	3,49	8,01	13,44	34,65	12,45	10,83	0,61	1,14	2,83	0,40	1,47	0,50	0,54	2,89	5,42
	2σ	0,31	0,26	0,20	0,23	0,34	0,35	0,78	0,35	1,88	0,12	0,05	0,08	0,17	0,19	0,07	0,05	0,06	0,26
	\tilde{x}	9,84	2,85	1,72	3,20	7,52	12,70	33,13	12,00	2,64	0,09	1,09	2,74	0,21	1,39	0,45	0,46	2,77	5,10

8. ANHANG

Tabelle 8.10 Gewichtsausbeute der anorganischen Matrix nach Deproteinierung und Ergebnisse der Isotopenanalyse von Carbonat und Phosphat.

Probe	Gew% anorganische Matrix	$\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$	$\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ (VPDB)	$\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ (VSMOW)	$\delta^{18}\text{O}_{\text{phos}}$ (VSMOW)
WF1	56,98	-15,74	-10,33		
WF2	56,83	-15,59	-9,02		
WF3	54,19	-15,08	-11,23		
WF4	55,98	-15,96	-7,89	22,77	14,67
WF5	51,12	-15,81	-8,30		
WF6	52,71	-15,02	-10,37		
WF8b	56,90	-14,28	-10,26		
WF9	55,69	-16,06	-9,92		
WF10	54,67	-16,29	-7,01	23,68	14,55
WF11	54,70	-16,61	-10,17		
WF12	57,53	-15,59	-8,96		
WF13	56,30	-15,14	-10,50		
WF14a	56,70	-15,52	-8,66		
WF14b	57,14	-16,32	-6,66	24,04	14,32
WF15	51,82	-15,82	-12,61		
WF16	59,22	-14,89	-10,74		
WF17	53,34	-16,00	-11,10		
WF18	59,12	-15,52	-10,32		
WF19	54,80	-15,88	-9,66		
WF20b	56,59	-15,45	-9,71		
WF21a	54,39	-16,42	-9,13	21,5	13,75
WF22	60,22	-15,85	-8,08	22,58	14,73
WF24	57,52	-15,54	-6,31	24,4	15,68
WF25	54,06	-15,63	-10,58		
WF26	54,83	-16,66	-11,00		
WF27	55,34	-15,26	-8,49	22,16	14,16
WF28	56,11	-15,88	-7,95	22,71	13,81
WF29b	46,41	-15,19	-10,20		
WF30	50,01	-16,23	-9,52		
WF31	57,34	-15,69	-10,63		
WF33	56,66	-16,05	-10,10		
WF34	58,98	-14,75	-8,46		
WF36	54,27	-15,98	-11,53		
WF37	56,34	-14,99	-8,95		
WF39b	56,51	-15,99	-9,98		
WF40b	55,92	-14,92	-11,12		
WF41	52,23	-14,33	-10,50		
WF42a	53,11	-15,11	-8,64		
WF42b	53,80	-15,20	-9,88		
WF43	52,32	-15,41	-7,58		
WF44	51,83	-16,34	-7,37		
WF45	53,40	-14,20	-10,68		
WF46	55,74	-14,81	-10,76		
WF47	53,83	-14,35	-9,36		
WF48	50,09	-16,05	-10,95		
WF49b	57,97	-15,03	-8,31		
WF50	55,48	-15,83	-9,05		
WF51	53,66	-16,03	-10,80		
WF52	54,23	-15,31	-9,72		
WF53	57,28	-15,59	-11,29		
Alt 1	76,86	-13,43	-5,26		
Alt 220	76,42	-13,99	-6,60		
Alt 240	61,70	-15,24	-6,30		
Alt 64	63,99	-14,48	-7,70		

Probe	Gew% anorganische Matrix	$\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$	$\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ (VPDB)	$\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ (VSMOW)	$\delta^{18}\text{O}_{\text{phos}}$ (VSMOW)
Alt 93	63,06	-14,16	-7,64		
MP 54	71,37	-12,99	-8,01		
MP 59	62,86	-12,78	-7,94		
MP 68	57,09	-13,32	-9,02		
SB 626	62,86	-14,87	-6,92		
SB 664	56,67	-14,91	-8,08		
BW 12	64,35	-13,23	-9,61		
BW 3	68,94	-12,25	-8,43		
BW 14	71,73	-12,12	-9,51		
BW 9	75,74	-12,09	-9,32		
BW 10	70,53	-12,05	-8,71		
MWL 55	63,66	-13,66	-9,53		
MWL 137	74,96	-11,73	-9,50		
MWL 193	59,99	-12,39	-7,43		
MWL 251	60,55	-13,61	-10,11		
MWL 408	57,48	-15,08	-10,06		
OTZ 1	61,76	-13,52	-9,33		
KE 145	63,40	-14,64	-10,26		
KE 150	63,86	-14,45	-10,40		
KE 161	66,35	-13,83	-10,77		
KE 174	65,32	-14,06	-10,12		
KE 192	68,53	-14,39	-9,76		
MG 1087	68,57	-12,23	-9,46		
MG 1340	74,29	-11,91	-9,20		
FH 3419	72,74	-12,35	-10,27		
FH 3520	70,75	-12,70	-9,79		
BrA 10	67,60	-14,25	-8,00		
BrA 11	62,77	-12,43	-5,40		
BrA 12	63,48	-12,43	-5,36		
BrA 3	72,86	-13,27	-5,36		
BrA 7	67,91	-13,72	-8,19		
Femur 1, frisch	53,15	-16,07	-5,92		
Femur 2, frisch	53,49	-16,59	-5,44		
Femur 3, frisch	56,86	-16,63	-5,63		
Femur 1, Tag 04	56,3	-16,33	-7,77		
Femur 1, Tag 06	53,98	-16,07	-8,63		
Femur 1, Tag 08	57,76	-16,14	-8,1		
Femur 1, Tag 10	58,35	-16,12	-8,25		
Femur 1, Tag 12	60,92	-16,13	-8,27		
Femur 1, Tag 14	58,1	-15,95	-10,2		
Femur 1, Tag 16	59,46	-15,94	-9,11		
Femur 1, Tag 20	72,1	-15,84	-9,1		
Femur 1, Tag 24	74,5	-15,83	-10,52		
Femur 1, Tag 28	71,6	-15,84	-10,93		
Femur 1, Tag 32	72,11	-15,94	-9,56		
Femur 2, Tag 04	54,94	-16,71	-7,2		
Femur 2, Tag 06	54,31	-16,83	-7,81		
Femur 2, Tag 08	53,55	-16,64	-7,99		
Femur 2, Tag 10	61,86	-16,57	-6,69		
Femur 2, Tag 12	59,64	-16,38	-8,64		
Femur 2, Tag 14	63	-16,62	-7,76		
Femur 2, Tag 16	60,41	-16,13	-8,47		
Femur 2, Tag 20	64,7	-16,36	-8,81		
Femur 2, Tag 24	76,75	-16,35	-8,75		
Femur 2, Tag 28	66,03	-16,29	-9,14		

Probe	Gew% anorganische Matrix	$\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$	$\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ (VPDB)	$\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ (VSMOW)	$\delta^{18}\text{O}_{\text{phos}}$ (VSMOW)
Femur 2, Tag 32	76,31	-16,19	-10,35		
Femur 3, Tag 04	60,34	-16,25	-8,48		
Femur 3, Tag 06	59,16	-16,68	-9,54		
Femur 3, Tag 08	59,5	-16,57	-7,49		
Femur 3, Tag 10	60,81	-16,65	-8,17		
Femur 3, Tag 12	57,21	-16,65	-8,73		
Femur 3, Tag 14	63,14	-16,55	-8,44		
Femur 3, Tag 16	63,5	-16,51	-8,25		
Femur 3, Tag 20	61,99	-16,4	-8,76		
Femur 3, Tag 24	79,12	-16,68	-9,09		
Femur 3, Tag 28	79,82	-16,37	-8,77		
Femur 3, Tag 32	76,61	-16,5	-9,41		
Femur 1 Kontrolle (aerob)	55,05	-16	-7,18		
Femur 2 Kontrolle (aerob)	59,55	-16,47	-6,61		
Femur 3 Kontrolle (aerob)	58,41	-16,58	-5,89		
Femur 1 <i>Pseudomonas fluorescens</i>	59,95	-16,21	-5,62		
Femur 2 <i>Pseudomonas fluorescens</i>	58,5	-16,48	-6,15		
Femur 3 <i>Pseudomonas fluorescens</i>	56,31	-16,02	-6,33		
Femur 1 <i>Streptomyces griseus</i>	57,5	-16,18	-5,95		
Femur 2 <i>Streptomyces griseus</i>	58,26	-16,57	-5,38		
Femur 3 <i>Streptomyces griseus</i>	57,36	-16,48	-6,6		
Femur 1 Kontrolle (anaerob)	54,33	-16,4	-7,21		
Femur 2 Kontrolle (anaerob)	59,08	-15,9	-5,27		
Femur 3 Kontrolle (anaerob)	60,19	-16,43	-7,13		
Femur 1 <i>Prevotella melaninogenica</i>	58,95	-16,06	-6,68		
Femur 2 <i>Prevotella melaninogenica</i>	58,34	-16,56	-6,53		
Femur 3 <i>Prevotella melaninogenica</i>	56,49	-16,33	-8,28		
Femur 1 <i>Clostridium histolyticum</i>	57,75	-16,18	-6,25		
Femur 2 <i>Clostridium histolyticum</i>	54,09	-15,88	-5,56		
Femur 3 <i>Clostridium histolyticum</i>	56,7	-16,58	-6,05		
Reh 1 frisch	52,7	-19,29	-6,8	23,9	14,7
Reh 1, 72 Tage	45,39	-19,49	-7,99	22,67	13,97
Reh 1, 178 Tage	54,22	-18,8	-8,35	22,3	14,62
Reh 2 frisch	45,44				
Reh 2, 178 Tage	58,45				
Reh 3 frisch	53,64	-17,9	-6,21	24,51	15,12
Reh 3, 72 Tage	39,14	-15,77	-9,06	21,57	14,68
Reh 3, 178 Tage	48,52	-17,03	-8,24	22,41	14,65
Reh 4 frisch	41,82				
Reh 4, 72 Tage	43,1				
Reh 4, 178 Tage	56,63				
Reh 5 frisch	51,28	-18,6	-7,43	23,25	14,93
Reh 5, 72 Tage	47,95	-18,86	-6,72	23,98	14,96
Reh 5, 178 Tage	48,84	-18,38	-9	21,64	13,76
Reh 6 frisch	52,38				
Reh 6, 51 Tage	34,43				
Reh 6, 157 Tage	58,56				
Reh 7 frisch	51,54	-18,69	-8,64	22,01	15,04
Reh 7, 51 Tage	52,25	-18,5	-7,71	22,96	15,2
Reh 7, 157 Tage	52,24	-18,08	-8,58	22,06	14,35
Reh 8 frisch	52,63				
Reh 8, 51 Tage	39,1				
Reh 8, 157 Tage	51,76				
Reh 9 frisch	52,13	-19,3	-8,38	22,28	14,5
Reh 9, 51 Tage	46,68	-19,13	-6,81	23,89	15,54

Probe	Gew% anorganische Matrix	$\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$	$\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ (VPDB)	$\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ (VSMOW)	$\delta^{18}\text{O}_{\text{phos}}$ (VSMOW)
Reh 9, 157 Tage	51,57	-18,81	-7,04	23,65	15,42
Reh 10 frisch	47,87				
Reh 10, 51 Tage	51,1				
Reh 10, 157 Tage	54,87				

Tabelle 8.11 Ergebnisse der spektrometrischen Untersuchung. CI = Kristallinitätsindex, FWHM = Halbwertsbreite.

Probe	CI	C/P	Kristall- größe	Pos. ν_2 CO_3^{2-} (FTIR)	OH-Bande 3600 cm^{-1} (FTIR)	Pos. ν_1 PO_4^{3-} (Raman)	FWHM ν_1 PO_4^{3-} (Raman)
WF1	2,4	0,76	33	871,83	nein	960,74	19,6
WF2	2,6	0,79	36,2	871,67	nein	968,06	17,8
WF3	2,5	0,73	34,8	871,82	nein	969,27	17,7
WF4	2,5	0,74	34,5	871,65	nein	969,01	15,7
WF5	2,4	0,75	32,2	871,49	nein	961,08	17,7
WF6	2,4	0,78	33,2	871,39	nein	959,65	16,6
WF8b	2,3	0,81	30,8	870,88	nein	961,22	17,8
WF9	2,4	0,77	33,3	871,36	nein	968,08	17,7
WF10	2,4	0,78	33,5	871,83	nein	968,29	17,7
WF11	2,4	0,78	32,7	871,36	nein	960,68	17,7
WF12	2,4	0,77	33,6	871,83	nein	968,28	17,7
WF13	2,5	0,79	34,5	871,83	nein	960,39	17,7
WF14a	2,4	0,84	33,7	872,09	nein	959,43	17,6
WF14b	2,6	0,76	36,3	871,83	nein	967,76	15,7
WF15	2,3	0,79	31,7	870,66	nein	969,19	17,7
WF16	2,5	0,77	35,3	871,71	nein	960,68	17,7
WF17	2,5	0,76	35,2	871,55	nein	960,98	17,7
WF18	2,3	0,73	31,7	871,32	nein	959,87	17,7
WF19	2,4	0,74	33	871,39	nein	966,43	17,7
WF20b	2,5	0,76	34,4	871,57	nein	960,15	17,6
WF21a	2,5	0,67	34,8	872,04	nein	960,55	15,8
WF22	2,6	0,79	36,9	871,85	nein	961,85	17,8
WF24	2,5	0,81	35,2	871,91	nein	960,39	17,7
WF25	2,5	0,77	34,3	871,61	nein		17,8
WF26	2,4	0,81	32,2	871,61	nein		17,7
WF27	2,5	0,75	34,4	871,61	nein		17,7
WF28	2,4	0,75	32,2	871,41	nein	960,8	18
WF29b	2,5	0,73	34,8	871,6	nein	960,62	15,9
WF30	2,5	0,76	35,2	871,46	nein	960,83	15,9
WF31	2,4	0,77	32,7	871,64	nein	961,48	15,7
WF33	2,4	0,78	32,7	871,64	nein	960,16	15,7
WF34	2,5	0,73	35	871,56	nein	966,39	17,7
WF36	2,4	0,79	33,5	871,02	nein	960	17,7
WF37	2,5	0,75	34,2	871,82	nein	969,06	17,7
WF39b	2,3	0,76	31,1	871,3	nein	960,91	17,7
WF40b	2,5	0,75	34,8	871,69	nein	959,34	17,6
WF41	2,4	0,74	33,9	871,87	nein	959,67	17,6
WF42a	2,4	0,78	32,3	871,51	nein	961,04	17,7
WF42b	2,5	0,77	34	871,87	nein	961,21	17,7
WF43	2,5	1,05	35,1	871,78	nein	960,08	17,9

Probe	CI	C/P	Kristall- größe	Pos. ν_2 CO_3^{2-} (FTIR)	OH-Bande 3600 cm^{-1} (FTIR)	Pos. ν_1 PO_4^{3-} (Raman)	FWHM ν_1 PO_4^{3-} (Raman)
WF44	2,4	0,77	33,3	871,04	nein	960,72	17,9
WF45	2,5	0,67	35,6	872,19	nein	959,61	17,6
WF46	2,4	0,75	32,2	871,47	nein	960,66	17,9
WF47	2,4	0,75	33,8	871,93	nein	949,47	17,8
WF48	2,5	0,75	34,8	871,78	nein	960,43	15,9
WF49b	2,4	0,78	32,1	871,64	nein	954,65	17,8
WF50	2,5	0,79	34,2	871,81	nein		19,8
WF51	2,4	0,75	32,5	871,62	nein	959,47	15,9
WF52	2,4	0,79	32,9	871,81	nein	960,98	17,7
WF53	2,4	0,75	33,2	871,24	nein	960,65	17,7
Alt 1	2,6	0,57	36,5	871,73	ja	960,7	13,9
Alt 220	2,3	0,77	31,7	872,01	ja	960,7	15,9
Alt 240	2,2	0,81	28,9	871,62	nein	960,7	15,9
Alt 64	2,6	0,68	36,4	871,94	ja	960,7	15,9
Alt 93	2,3	0,86	31,1	870,7	nein	960,7	15,9
MP 54	2,9	0,67	42,3	872,21	ja		
MP 59	2,5	0,8	34,6	872,27	nein	958	17,8
MP 68	2,6	0,89	37	872,43	nein	959	17,8
SB 626	2,5	0,73	34,2	871,47	nein	958,86	17,8
SB 664	2,5	0,76	34,8	871,47	nein	959,19	17,8
BW 12	2,8	0,67	41,2	872,27	nein	960,05	18,6
BW 3	2,7	0,68	40,2	872,27	nein	967,1	19,8
BW 14	2,9	0,63	43,1	872,59	nein		
BW 9	2,8	0,67	40,2	872,75	nein	968,1	15,8
BW 10	2,7	0,71	39,5	872,43	nein	969,1	15,8
MWL 55	2,5	0,76	35,4	871,31	nein	960	13,8
MWL 137	2,5	0,77	35,5	872,57	ja		
MWL 193	2,9	0,58	42,7	871,85	nein	958	15,8
MWL 251	2,6	1	37,2	873,66	nein		
MWL 408	2,5	0,74	34,8	871,24	nein		
OTZ 1	2,7	0,68	38,4	871,62	nein	958,33	15,8
KE 145	2,6	0,68	36,7	871,69	nein	969,1	15,8
KE 150	2,6	0,69	37,7	871,93	nein	958	17,7
KE 161	2,8	0,59	42,1	872,17	ja	969,1	15,8
KE 174	2,8	0,63	41,2	872,22	nein	959	15,8
KE 192	2,9	0,58	42,4	871,95	ja	969,1	13,8
MG 1087	2,7	0,77	40	872,29	nein	959,06	17,7
MG 1340	2,8	0,7	40,5	872,65	nein	959,47	16,6
FH 3419	2,7	0,75	40,1	872,05	nein	969	15,8
FH 3520	2,8	0,78	41,3	872,53	nein	959,93	14,7
BrA 10	2,4	0,9	33,8	871,32	nein	959,9	17,9
BrA 11	2,3	1	30,5	871,32	nein	959,9	17,9
BrA 12	2,4	0,95	32,1	873,04	ja	959,9	17,9
BrA 3	2,2	0,99	29,6	872,49	ja	960,9	17,9
BrA 7	2,3	1,02	30,2	872,57	ja	958,9	17,9
Femur 1, frisch	2,4	0,76	31,9	870,8	nein	959,9	15,7
Femur 2, frisch	2,3	0,79	31,6	871,57	nein	960,5	17,75
Femur 3, frisch	2,1	0,84	27,6	870,37	nein		
Femur 1, Tag 04	2,4	0,65	32	870,73	nein	959,9	17,67
Femur 1, Tag 06						959,9	15,7
Femur 1, Tag 08						959,9	15,7
Femur 1, Tag 10	2,1	0,78	26,9	870,67	nein	959,9	15,7
Femur 1, Tag 12	2,2	0,79	29,5	871,04	nein	959,9	15,7
Femur 1, Tag 14	2,3	0,69	31,1	869,59	nein	959,9	15,7
Femur 1, Tag 16	2,2	0,76	27,8	869,28	nein	959,9	15,7

Probe	CI	C/P	Kristall- größe	Pos. ν_2 CO_3^{2-} (FTIR)	OH-Bande 3600 cm^{-1} (FTIR)	Pos. ν_1 PO_4^{3-} (Raman)	FWHM ν_1 PO_4^{3-} (Raman)
Femur 1, Tag 20	2,6	0,64	37,7	871,76	ja	959,9	19,63
Femur 1, Tag 24	2,9	0,58	43	872,04	ja	959,9	13,74
Femur 1, Tag 28	3,2	0,53	49,7	872,3	ja	960,9	13,74
Femur 1, Tag 32	2,9	0,55	43	871,92	ja	960,9	13,74
Femur 2, Tag 04	2,2	0,81	28,9	869,97	nein	960,5	17,77
Femur 2, Tag 06	2,1	0,9	27,2	870,27	nein	959,5	17,77
Femur 2, Tag 08	2,3	0,79	30,2	869,88	nein	960,5	15,8
Femur 2, Tag 10				870,14	nein	960,5	17,77
Femur 2, Tag 12	2,1	0,92	26,2	871,72	nein	960,5	15,8
Femur 2, Tag 14	2,2	0,9	29,1	870,83	nein	960,5	15,8
Femur 2, Tag 16	2,2	0,76	27,8	870,32	nein	960,5	15,8
Femur 2, Tag 20						960,5	15,8
Femur 2, Tag 24	2,5	0,77	34,6	871,52	ja	961	13,8
Femur 2, Tag 28	2,3	0,83	30,4	871,45	ja	960	15,8
Femur 2, Tag 32	2,5	0,57	35,9	871,42	ja	960	15,8
Femur 3, Tag 04	2	1,05	25,6	869,35	nein	960,9	15,86
Femur 3, Tag 06						959,9	17,85
Femur 3, Tag 08						959,9	17,66
Femur 3, Tag 10	2,2	0,62	29,6	869,45	nein	959,9	17,66
Femur 3, Tag 12	2,3	0,69	30,9	869,89	nein	960,9	15,7
Femur 3, Tag 14	2,3	0,83	31	870,68	nein	959,9	15,7
Femur 3, Tag 16	2,5	0,61	34,7	870,87	nein	959,9	17,66
Femur 3, Tag 20	2,4	0,37	33,6	870,53	nein	959,9	15,7
Femur 3, Tag 24	2,8	0,63	40,8	871,85	ja	959,9	15,7
Femur 3, Tag 28	2,8	0,66	41,6	872,29	ja	959,9	15,7
Femur 3, Tag 32	2,8	0,68	41,3	872,43	ja		
Femur 1 Kontrolle (aerob)	2,3	0,72	31,3	871,82	nein	940,4	16,6
Femur 2 Kontrolle (aerob)	2,1	0,81	26,4	872,17	nein	960,4	16,6
Femur 3 Kontrolle (aerob)	2,4	0,73	33,2	871,87	nein	959,4	18,6
Femur 1 <i>Pseudomonas fluorescens</i>	2,4	0,78	32,8	871,9	nein	940,4	16,6
Femur 2 <i>Pseudomonas fluorescens</i>	2,3	0,86	30,3	871,51	nein	959,4	16,6
Femur 3 <i>Pseudomonas fluorescens</i>	2,4	0,67	32,1	871,79	nein	959,4	18,6
Femur 1 <i>Streptomyces griseus</i>	2,3	0,69	30,5	872,2	ja	960,4	16,6
Femur 2 <i>Streptomyces griseus</i>	2,5	0,69	34,6	871,83	ja	940,4	16,6
Femur 3 <i>Streptomyces griseus</i>	2,3	0,8	31,5	871,65	nein	959,4	18,6
Femur 1 Kontrolle (anaerob)	2,4	0,69	32	871,31	nein	959,4	18,6
Femur 2 Kontrolle (anaerob)	2,2	0,94	27,7	871,69	nein	960,4	16,6
Femur 3 Kontrolle (anaerob)	3	0,46	44,5	871,8	nein	959,4	16,6
Femur 1 <i>Prevotella melaninogenica</i>	2,5	0,99	34	872,06	nein	960,4	16,6
Femur 2 <i>Prevotella melaninogenica</i>	2,7	0,66	39,3	872,23	nein	959,4	18,6
Femur 3 <i>Prevotella melaninogenica</i>	2,7	0,66	38,2	872,24	nein	959,4	18,6
Femur 1 <i>Clostridium histolyticum</i>	2,3	0,96	30,9	872,58	ja	959,4	16,6
Femur 2 <i>Clostridium histolyticum</i>	2,4	0,94	33,2	871,93	nein	960,4	16,6
Femur 3 <i>Clostridium histolyticum</i>	2,3	0,97	31,3	872,06	nein	960,4	16,6

b) Analyse der Bodenproben

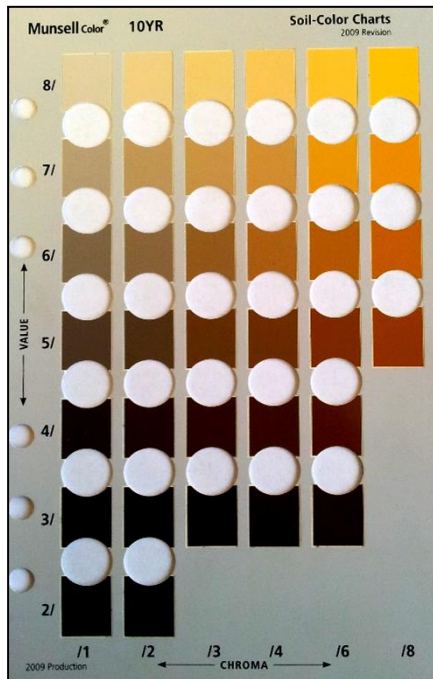


Abb. 8.1 Beispiel einer Munsell Bodenfarbkarte, Farbton 10YR (= Yellow-Red). Die Skalierung von 0 bis 10 zeigt den Anteil der jeweiligen Farbe an der Gesamtnuancierung. Die Werte für Helligkeit (Value) werden auf einer Skala von 0 (absolutes Schwarz) bis 10 (absolutes Weiß) dargestellt, die Sättigung (Chroma) bewegt sich zwischen 0 (neutralem Grau) und 20, wobei dieser Wert in Böden so gut wie nie erreicht wird.

Tabelle 8.12 Übersicht über die Kategorisierung der Bodenkonsistenz (nach Fitzpatrick 2008).

Kategorie	Beschreibung	Rupturbeständigkeit	Wasserdurchlässigkeit
1	locker	Zerfällt in den Fingern	keine Einschränkung
2	weich	Zerbröckelt unter leichtem Druck	leichte Einschränkung
3	fest	Zerfällt bei moderatem bis starkem Druck	kann eingeschränkt sein, evtl. periodischer Wasserstau
4	sehr hart	Kann nicht mit bloßen Fingern zerdrückt werden, aber unter Einsatz des vollen Körpergewichts	eingeschränkt
5	felsig	Kann nicht mit Hammer zerschlagen werden	normalerweise undurchlässig

Tabelle 8.13 Klassifizierungsschema zur Bestimmung der Bodentextur (nach Fitzpatrick 2008)

Textur	Texturcode	Formbare Länge	Eigenschaften und Tonanteil
Sand	S	0 mm	Kann nicht geformt werden Tonanteil < 5%
Lehmiger Sand	LS	5 mm	Kann nicht geformt werden Tonanteil 5 – 10%
Toniger Sand	TS	5 – 15 mm	Kann nicht geformt werden Tonanteil 5 – 10%
Sandiger Lehm	SL	15 – 25 mm	Sandiger Charakter Tonanteil 10 – 20%
Lehm	L	25 mm	Geschmeidig bis schmierig Tonanteil ca. 25%
Schluffiger Lehm	ZL	25 mm	Geschmeidig bis schmierig, seidig Tonanteil ca. 25%
Sandiger Tonlehm	STL	25 – 40 mm	Sandiger Charakter, einzelne Sandkörner unterscheidbar; Tonanteil 20 – 30%
Tonlehm	TL	40 – 50 mm	Geschmeidig formbar Tonanteil 30 – 35%
Leichter Ton	LT	50 – 75 mm	Geschmeidig, leicht zwischen Daumen und Zeigefinger scherbar; Tonanteil 34 – 40%
Mittlerer Ton	MT	> 75 mm	Kann ohne Risse zu Stäbchen geformt werden; gewisse Resistenz gegen Scherung; Tonanteil 45 – 55%
Schwerer Ton	ST	> 75 mm	Kann ohne Risse zu Stäbchen geformt werden; hohe Resistenz gegen Scherung; Tonanteil > 55%

c) Optimierung der Hydrolysebedingungen für die chromatographische Proteinanalytik

Für die hydrolytische Spaltung des Kollagenlyophilisats wird meist die saure Hydrolyse mit 6 N HCl angewendet, welche als besonders zuverlässig gilt (Fountoulakis und Lahm 1998). Jedoch ist bei dieser Methodik bekannt, dass aus biochemischen Gründen ein gewisser Verlust an bestimmten Aminosäuren einkalkuliert werden muss (siehe Tabelle 8.14).

Tabelle 8.14 Bekannte Auswirkungen der Hydrolyse von Kollagen mit 6 N HCl (nach Condon 1986; Fountoulakis und Lahm 1998).

Aminosäuren	Hydrolyse mit 6 N HCl
Leucin, Isoleucin, Valin	Sehr lange Hydrolysezeiten nötig, um Bindungen zu spalten
Glutamin, Asparagin	Signifikante Verluste, Umwandlung in Glutamat und Aspartat
Tryptophan	Meist vollständige Zerstörung
Threonin, Serin	Geringe Verluste
Methionin, Cystein	Geringe Verluste

Oft wird der Reaktion Phenol in geringer Konzentration zugegeben, um die Zerstörung der aromatischen Aminosäuren zu verhindern (Condon 1986).

Eine weitere Methode zur Spaltung des Polypeptids ist die Hydrolyse mit 4 M MSS⁷³, welche den Vorteil bietet, dass empfindliche Aminosäuren wie beispielsweise Tryptophan, die bei der Hydrolyse mit HCl zerstört werden, ohne weitere Additive bewahrt werden können. Problematisch hierbei ist, dass MSS nicht flüchtig ist und somit nicht verdampft werden kann, sondern vor der Injektion in die HPLC-Maschine anderweitig neutralisiert werden muss. Hierdurch müssen auch größere Ausgangsprobenmengen eingesetzt werden (Fountoulakis und Lahm 1998).

Um die bestmögliche Hydrolysemethode für die Messung der Proben der vorliegenden Studie zu bestimmen, wurde die Hydrolyseeffizienz von 6 N HCl und 4 M MSS im Rahmen des Forschungspraktikums von Roland Immler (Daten unveröffentlicht) an aus zehn frischen Rehknochen (siehe 2.4) extrahiertem Kollagen unter folgenden Bedingungen getestet:

- 1) 6 N HCl, 115°C, 14 Stunden (oxidativ)
- 2) 6 N HCl, 115°C, 14 Stunden (anoxisch)
- 3) 6 N HCl, 115°C, 18 Stunden (oxidativ)
- 4) 6 N HCl, 115°C, 18 Stunden (anoxisch)
- 5) 6 N HCl, 115°C, 24 Stunden (oxidativ)
- 6) 6 N HCl, 115°C, 24 Stunden (anoxisch)
- 7) 4 M MSS, 115°C, 14 Stunden (anoxisch)
- 8) 4 M MSS, 115°C, 18 Stunden (anoxisch)
- 9) 4 M MSS, 115°C, 24 Stunden (anoxisch)

Hydrolyse mit 6 N HCl (oxidativ)

Die saure Hydrolyse ohne Ausschluss von Sauerstoff (oxidativ) wirkt sich mitunter stark destruktiv auf die Detektion verschiedener Aminosäuren aus (Weiss et al. 1998), daher ist diese Aufschlussmethode für Routinemessungen nicht zu empfehlen. Dennoch wurde die Hydrolyse unter oxidativen Bedingungen mit getestet, um zu ermitteln, wie gravierend sich die Unterschiede zu den anoxischen Methoden darstellen.

Hierfür wurde jeweils 1 mg des Kollagenlyophilisats in 3 ml PTFE-Gefäße (Savillex) eingewogen, direkt mit 1 ml 6 N HCl versetzt und mit geschlossenem Deckel auf eine PTFE-beschichtete, säurefeste Heizplatte (Stuart) gestellt, die sich unter einem säurefesten Abzug (Erlab) befand. Der Reaktionsansatz verblieb zur Hydrolyse für jeweils 14, 18 oder 24 Stunden bei 115° C auf der Heizplatte. Danach wurden die Deckel abgeschraubt und die Säure wurde bei 90° C vollständig verdampft.

Hydrolyse mit 6 N HCl (anoxisch)

Siehe Kapitel 3.6.1

⁷³ Methansulfonsäure

Hydrolyse mit 4 M MSS

Da Methansulfonsäure nicht verdampft werden kann, muss die Einwaagemenge der Probe erhöht werden, da eine Verdünnung des Hydrolyseansatzes vor der Messung zwingend nötig ist, um den pH-Wert zu neutralisieren. Statt der bei der sauren Hydrolyse üblichen 1 mg wurden hier 2 mg Probe in Glas-Gewindefläschchen (Roth, siehe oben) eingewogen und mit 500 µl 4 M MSS (pH 2,3; aus Stammlösung 70 %, Roth) versetzt. Das Spülen der Fläschchen mit Stickstoff und die anschließende Hydrolyse folgten dem Vorgehen bei der anoxischen Hydrolyse mit 6 N HCl. Nach einer Hydrolysezeit von 14, 18 bzw. 24 Stunden wurden die Proben mit je 500 µl 4 M NaOH (80 g/500 ml, Roth) verdünnt.

Schlussfolgerungen

Der durchgeführte Methodenvergleich zeigte, dass die Hydrolyse unter oxidativen Bedingungen erwartungsgemäß weniger stabile Werte lieferte und das Aminosäureprofil im Vergleich zu den anderen Methoden leicht veränderte. Die Ergebnisse für die anoxische Hydrolyse sowohl mit HCl als auch MSS waren recht einheitlich (siehe Abb. 8.2), wobei bei den mit Methansulfonsäure hydrolysierten Proben auffiel, dass die gemessene Proteinmenge signifikant unter der mit HCl aufgeschlossenen Proben lag. Durch ein Aufschütteln der Fläschchen unmittelbar vor der Messung konnte die gemessene Proteinanteil deutlich erhöht werden, was auf eine Phasentrennung innerhalb der Probenlösung hindeutete, die eine Folge der notwendigen Neutralisierung der Säure sein dürfte (siehe auch Weiss et al. 1998). Dies hatte jedoch keinen Einfluss auf die gemessene Kollagenzusammensetzung.

Aufgrund dieser Beobachtung und der hohen Einwaagemenge, die für die Hydrolyse mit MSS nötig ist, erscheint die Methode weniger geeignet für archäologisches Knochenmaterial, in welchem der Proteinanteil teilweise deutlich reduziert ist. Da, bis auf thr, ser und phe, die höchsten Aminosäurekonzentrationen nach 14-stündiger Hydrolysedauer gemessen wurden, wurde für die Reihenummessung der Proben in dieser Arbeit die Hydrolyse mit 6 N HCl unter anoxischen Bedingungen angewendet. Die Ausfälle in den genannten Aminosäuren könnten an dieser Stelle auf eine nicht ganz vollständige Hydrolyse hindeuten. Dies wurde jedoch als Kompromiss in Hinblick auf die Probenzusammenstellung des Projekts in Kauf genommen, da degradativen Einflüssen ausgesetztes Kollagen meist bereits angegriffen ist und eine längere Hydrolysezeit hier kontraproduktiv wäre.

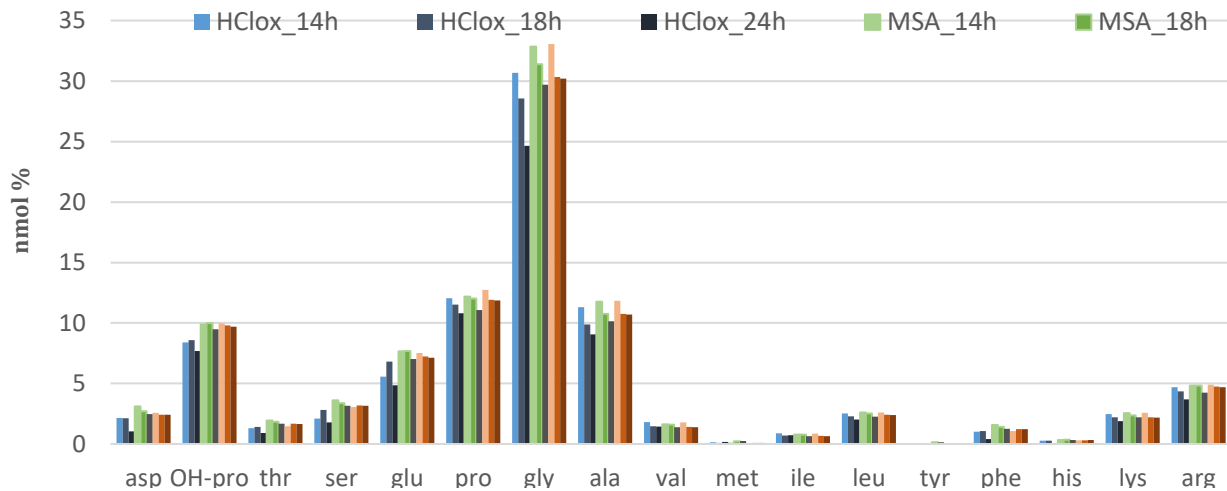


Abb. 8.2 Vergleich der gemessenen Aminosäureprofile von rezentem Reh-Kollagen nach Hydrolyse mit 6 N HCl und 4 M MSS für 14, 18 und 24 Stunden in nmol % (Daten von Roland Immler, unveröffentlicht).

d) Etablierung der Extraktion von Phosphat aus dem Knochenmineral

Die Extraktionsmethode muss verschiedene Kriterien erfüllen, um eine quantitative Ausbeute des Phosphats und somit eine vollständige Darstellung der isotopischen Zusammensetzung des gebundenen Sauerstoffs zu gewährleisten. Hierfür müssen die organischen Bestandteile des Knochens abgetrennt, die Kristallstrukturen aufgebrochen, nicht im Phosphat gebundene Sauerstoffmoleküle entfernt und das gesamte Phosphat vollständig gefällt werden. Seit dem Beginn der Phosphatfällung mit Wismut durch Tudge (1960) wurde die Methodik immer weiter abgewandelt und verfeinert. So ist inzwischen das Verfahren der Silberphosphatfällung die gebräuchlichste Anwendung, da Ag_3PO_4 Kristalle weit weniger hygroskopisch sind als BiPO_4 (z.B. Crowson et al. 1991, Lécuyer et al. 1993, Dettman et al. 2001). Dennoch wenden die einzelnen Forschungseinrichtungen, welche Phosphat aus Hartgeweben extrahieren, zumeist leicht unterschiedliche Protokolle zur Fällung von Silberorthophosphat an, weswegen die Analyse von mindestens zwei verschiedenen Standards bei jeder Extraktion unabdingbar ist. Als routinemäßig verwendete Referenzsubstanz wird NBS 120c⁷⁴, ein phosphathaltiges Gestein, welches aus einer Formation in Florida, USA, gewonnen wird, bei jeder Analyse mitgeführt. Zusätzlich wurde in der vorliegenden Arbeit der Standard NIST SRM-1400⁷⁵ ergänzend analysiert. Aufgrund der Beobachtung, dass bei Ausgangsmaterial mit inhomogener Zusammensetzung (inklusive der verwendeten Standards) die Fällungsmethode einen Einfluss auf die gemessene Isotopenzusammensetzung des Präzipitats haben kann (Vennemann et al. 2002, Chenery et al. 2010, Pucéat et al. 2010), gilt die Extraktionskontrolle anhand der Referenzsubstanzen in erster Linie als laborinterne Qualitätssicherung.

⁷⁴ National Bureau of Standards (heute NIST, National Institute of Standards and Technology) 120c

⁷⁵ National Institute of Standards and Technology, Standard Reference Material 1400, Bone Ash

Zur Abtrennung des Calciums aus dem Mineral wird generell eine Fluorierung der Proben durchgeführt, welche eine Ausfällung des Calciums als CaF_2 bedingt, welches anschließend leicht entfernt werden kann. Hierfür werden üblicherweise, je nach Protokoll, zwei verschiedene Chemikalien verwendet, Flusssäure (HF) oder Bromtrifluorid (BrF_3). Hierbei ist HF häufiger in Gebrauch, da BrF_3 flüchtig, sehr reaktionsfähig und hoch giftig ist. Daher wurden für die Etablierung der Methodik Protokolle ausgewählt, die auf HF basieren. Jedoch müssen auch für das Arbeiten mit HF spezielle Vorkehrungen getroffen werden, da es sich um ein stark ätzendes Kontaktgift handelt, welches bei bereits relativ geringer Exposition tödlich wirken kann. Daher musste vor Beginn der Extraktionen sichergestellt werden, dass das Labor für Notfälle über Calciumgluconat-Monohydrat-Lösung (10 %, B. Braun) verfügt, welches antidotisch bei HF-Vergiftungen/-Verätzungen eingesetzt wird, sowie ein Inhalationsspray mit dem Glucocorticoid Dexamethason (Teva Ventolair 100 µg, Beclometasondipropionat) zur Verfügung steht, um eventuell eingeatmete HF-Aerosole zu neutralisieren. Da diese Präparate rezeptpflichtig sind, wurden die entsprechenden Rezepte vom Betriebsarzt der LMU, Dr. Kapfhammer, ausgestellt. Weiterhin wurde ein Universalabsorber-Pulver (Rotisorb, Roth) bereitgestellt, um eventuell verschüttete HF-Lösung sofort und effektiv binden zu können. Die Eignung des Labors und dessen Ausstattung für das Arbeiten mit HF wurde durch nach Begehung durch die Beauftragte der LMU für Arbeitssicherheit und Gefahrstoffe, Frau Dipl.-Ing. Schimschar, bestätigt.

Die massenspektrometrische Messung folgte demselben Prinzip wie unter 3.8 beschrieben, lediglich die bei der Messung mitgeführten Standards, auf welche die Proben geeicht wurden, unterschieden sich von der massenspektrometrischen Bestimmung der Isotopenverhältnisse des Carbonats. So wurde das Verhältnis der stabilen Sauerstoffisotope auf den Standard NBS 120c kalibriert, welcher auch bei jeder Probenextraktion mitgeführt wurde, und relativ zum Standard V-SMOW⁷⁶ in δ -Notation und Promille angegeben.

Testextraktion nach dem Protokoll von Dettman et al. (2001), modifiziert von Tütken et al. (2006)

Das erste Protokoll, welches auf seine Reproduzierbarkeit getestet wurde, folgte der Extraktionsanleitung aus der Publikation von Tütken et al. (2006).

Hierfür wurden jeweils 4 mg des zuvor deproteinierten Knochenpulvers (siehe 3.7) in 2 ml Reaktionsgefäße (Safe-Lock™, Eppendorf) eingewogen (Ohaus Analytical plus), mit 800 µl 2 M HF (aus 48% Stammlösung, Roth) versetzt und für 10 Minuten im Ultraschallbad aufgelöst. Um eine vollständige Ausfällung des Calciums als CaF_2 zu gewährleisten, wurden die Reaktionsgefäße über Nacht bei Raumtemperatur auf einem Schüttler (neolab) belassen. Danach wurden die Proben erneut für 10 Minuten ins Ultraschallbad gestellt und anschließend für zwei Minuten bei 10.000 rpm zentrifugiert (2K15, Sigma; Z233MK-2, Hermle). Das ausgefällte CaF_2 bildete nun ein weißes Pellet am Boden der Reaktionsgefäße und wurde verworfen, während der Überstand jeweils in ein frisches 2 ml Reaktionsgefäß (Safe-Lock™, Eppendorf), dessen Nettogewicht zuvor notiert worden war, überführt wurde. Da die Vollständigkeit der anschließenden Silberphosphatfällung nur in

⁷⁶ Vienna Standard Mean Ocean Water

einem pH-Wertbereich zwischen 7 und 8 gewährleistet ist, wurde den Proben jeweils ein Tropfen des Indikatorfarbstoffs Bromthymolblau zugegeben, welcher den korrekten pH-Wert durch einen Farbumschlag von Gelb nach Blau anzeigt. Um den pH-Wert der sauren Probenlösung auf den Fällungsbereich anzuheben, wurden mit Hilfe einer Hamilton-Mikrospritze schrittweise ca. 140 µl 25%iges NH_4OH hinzugetropft, bis der Indikator durch Farbumschlag einen pH-Bereich von 7-8 anzeigte. Das Phosphat wurde dann durch Zugabe von 800 µl einer 2 M AgNO_3 -Lösung ausgefällt, was an der Bildung gelber Kristalle erkennbar war, die sich am Gefäßboden absetzten. Anschließend wurden die Proben für zwei Minuten bei 10.000 rpm zentrifugiert, der Überstand wurde abpipettiert und das Reaktionsgefäß mit 2 ml deionisiertem Wasser gefüllt. Die Kristalle wurden zunächst auf dem Vortex-Mixer und dann im Ultraschallbad gewaschen und erneut für zwei Minuten bei 10.000 rpm abzentrifugiert. Nach dem Verwerfen des Überstandes wurden die Kristalle bei 50°C über Nacht im Wärmeschrank getrocknet bevor die Reaktionsgefäße gewogen wurden und die Extraktionsausbeute berechnet werden konnte.

Für die Vorbereitung der massenspektrometrische Messung wurden die Kristalle mit Hilfe eines stumpfen Metallspatels in den Reaktionsgefäßen zermahlen und jeweils ein Triplet von 0,19-0,35 mg pro Probe in Silberkapseln (3,2 x 4 mm, IVA Analysentechnik) eingewogen und in 96-Well-Platten an das GeoZentrum Nordbayern, Erlangen, verschickt.

Erste Testmessungen nach der Extraktion der beiden Standards NBS 120c und NIST-SRM 1400 zeigten, dass sich protokollgemäß Silberphosphatkristalle ausfällen ließen, und daher wurde die Methodik im Rahmen der Diplomarbeit von Rott (2011) weiter vertieft. Jedoch lieferten dort die durchgeführten Extraktionen keine zufriedenstellenden Ergebnisse hinsichtlich der Messung des Verhältnisses der stabilen Sauerstoffisotope. Die nach der Fällung und Trocknung erhaltenen Ag_3PO_4 Kristalle wichen in ihrer grau-grünen Farbe deutlich von den in der Literatur beschriebenen Parametern ab, und die $\delta^{18}\text{O}$ -Werte der gemessenen Standards zeigten zu starke Schwankungen. Auch nach weiterführenden Reihenmessungen der beiden Standards konnten keine stabilen $\delta^{18}\text{O}$ -Werte erzielt werden (Schwankungen bis zu 2 ‰). Aus diesen Gründen konzentrierten sich die Bemühungen anschließend auf eine andere, leicht unterschiedliche Extraktionsmethodik.

Silberphosphatfällung nach Joachimski et al. (2009)

Das Protokoll nach Joachimski et al. (2009) bietet gegenüber der zuvor getesteten Methodik den Vorteil, dass das einzusetzende Volumen an Flusssäure wesentlich geringer gehalten werden konnte und somit auch das Risikopotenzial, den der Umgang mit dem Gefahrstoff mit sich bringt. Weiterhin wurde kein Indikatorfarbstoff eingesetzt, der eventuell einen Einfluss auf die Kristallbildung während der Fällung des Silberphosphats haben könnte.

Auch hier musste das Knochenpulver vor der Extraktion zunächst deproteiniert werden (vgl. 3.7), da organische Reste die korrekte Kristallisation des Silberphosphats bei der Fällung beeinträchtigen können.

Danach wurde jeweils 1 mg der Probe in ein 2 ml Reaktionsgefäß (Safe-Lock™, Eppendorf) eingewogen (Ohaus Analytical plus), mit 33 µl 2 M HNO_3 (Roth) versetzt und über Nacht auf dem Schüttler (neolab) vollständig aufgelöst. Anschließend wurde die Säure durch Zugabe von 33 µl 2

M KOH (Roth) neutralisiert, bevor zur Ausfällung des Calciums 33 µl 2 M HF zugegeben und die Proben eine Stunde auf dem Schüttler belassen wurden. Um den weißen CaF_2 -Niederschlag sicher vom phosphathaltigen Überstand abzutrennen, wurden die Proben für 15 Minuten bei 3000 rpm zentrifugiert (2K15, Sigma; Z233MK-2, Hermle), und der Überstand wurde anschließend abpipettiert und in ein frisches, zuvor abgewogenes 2 ml Reaktionsgefäß (Safe-Lock™, Eppendorf) überführt. Die Silbernitrat-Fällungslösung für die Silberphosphat-Fällung wurde für jede Extraktionsrunde kurz vor der Zugabe zu den Proben frisch angesetzt (0,34 g AgNO_3 + 0,28 g NH_4NO_3 + 1 ml 25 % NH_4OH , ad 30 ml Aqua deion.), da Silbernitrat durch Lichteinwirkung sehr schnell zu elementarem Silber reduziert wird und auch die enthaltene Ammoniaklösung instabil ist und so den pH-Wert der Fällungslösung ungünstig beeinflussen kann. Für die Fällung wurden schließlich 500 µl der vorbereiteten AgNO_3 -Lösung zu den Proben pipettiert, woraufhin ein sofortiges Ausfallen der gelben Silberphosphatkristalle zu beobachten war und die Lösung anschließend wieder klar wurde, was auf die Vollständigkeit der Fällung hinwies. Die Reaktionsgefäße wurden dann mit offenem Deckel bei 60°C über Nacht auf einer Heizplatte unter dem Abzug belassen, um ein vollständiges Auskristallisieren aller Phosphationen zu gewährleisten.

Danach wurde die verbliebene Flüssigkeit vorsichtig abpipettiert, und die Kristalle wurden durch Zutropfen von deionisiertem Wasser gewaschen, bevor die Flüssigkeit erneut abgenommen wurde. Die Reaktionsgefäße wurden dann für 3 Minuten ins Ultraschallbad gestellt, um eventuell an der Gefäßwand haftende Kristalle zu lösen und zu waschen. Die letzten beiden Schritte wurden mindestens fünf Mal wiederholt, bis sich alle Kristalle am Boden des Gefäßes abgesetzt hatten. Mit einer Pipette wurde nun so viel Flüssigkeit wie möglich abgesaugt, und die Proben wurden im Trockenschrank (Memmert) bei 60° C für 4 Stunden getrocknet.

Auch hier wurden die Kristalle zur Vorbereitung der massenspektrometrischen Messung, wie unter 3.9.1, anschließend mit Hilfe eines Metallspatels in den Reaktionsgefäßen zerstoßen, und die Extraktionsausbeute wurde durch Wiegen des Gefäßes berechnet. Danach wurde jeweils ein Triplet von 0,19-0,35 mg pro Probe in Silberkapseln (3,2 x 4 mm, IVA Analysentechnik) eingewogen und auf einer 96-Well-Platte zur Messung an das GeoZentrum Nordbayern, Erlangen, geschickt.

Auch die ersten Standard-Messreihen der nach dieser Methodik gewonnenen Silberphosphatkristalle zeigten anfangs noch zu starke Schwankungen, insbesondere für den Standard NIST-SRM 1400 Bone Ash. Die Vermutung erhärtete sich, dass die Fällung des in den Proben enthaltenen Phosphats unvollständig war. Nachdem alle Agenzien unmittelbar vor der nächsten Testextraktion neu angesetzt worden waren, lieferten die Standards zufriedenstellende Werte mit geringer Schwankung zwischen 0,11 ‰ und 0,29 ‰ für NBS 120c bzw. 0,06 ‰ und 0,39 ‰ für NIST-SRM 1400. Es stellte sich heraus, dass das in der Silbernitratlösung enthaltene NH_4OH durch die Flüchtigkeit des Ammoniaks sehr labil war und daher bereits nach kurzer Zeit seinen pH-Wert veränderte, womit die vollständige Ausfällung des Silberphosphats verhindert wurde.

Bis Juli 2012 wurden die im Zuge der massenspektrometrischen Messung ermittelten Werte für die Proben auf einen $\delta^{18}\text{O}$ -Wert von 22,6 ‰ für den Standard NBS 120c kalibriert (nach Venne-mann et al. 2002). Danach wurde dieser Wert aufgrund neuerer Erkenntnisse im Rahmen der Iso-

phos-Tagung (2012) auf 21,7 ‰ korrigiert. Zu einem früheren Zeitpunkt gemessene Proben wurden damit um einen Wert von -0,9 ‰ angepasst, um eine Vergleichbarkeit mit neueren Messungen zu gewährleisten. Alle angegebenen Werte entsprechen der aktuellen Kalibration.

Die acht gemessenen Proben des Kollektivs Westfriedhof zeigten insgesamt recht homogene Werte zwischen $\delta^{18}\text{O} = 13,75$ ‰ und $14,73$ ‰. Die Probe WF 24 hob sich mit einem Wert von $15,68$ ‰ etwas von den anderen ab (siehe Abb. 8.3), wies jedoch auch die von allen Proben höchste Standardabweichung innerhalb des Messtripletts auf ($\sigma = 0,45$).

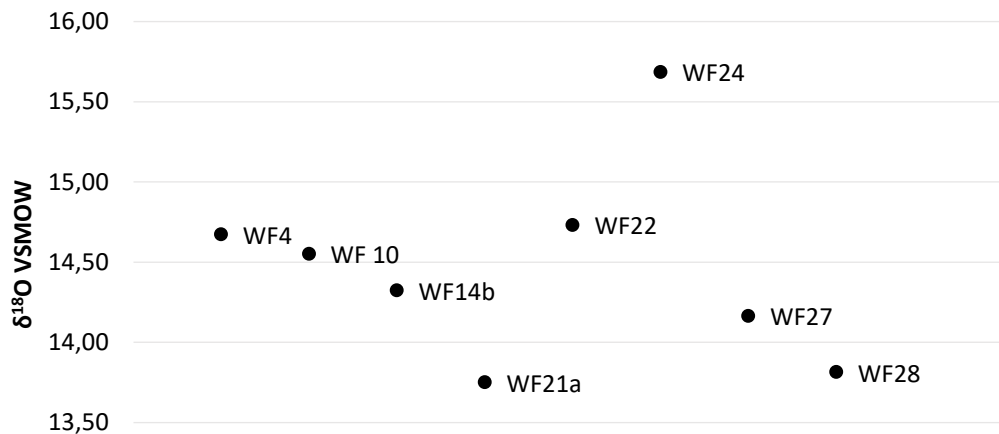


Abb. 8.3 Verteilung der $\delta^{18}\text{O}$ -Werte aus der Phosphatfraktion der acht Proben des Westfriedhofs.

Auch die frischen Rehknochen zeigten mit $\delta^{18}\text{O}$ -Werten zwischen $14,50$ ‰ und $15,12$ ‰ eine relativ homogene Isotopensignatur ($2\sigma = 0,23$). Dies veränderte sich jedoch im Laufe der Depositionszeit ($2\sigma = 0,53$ bzw. $0,54$), wobei sich die Knochen der verschiedenen Individuen unterschiedlich verhielten. Während bei Reh 1 und 3 nach den ersten drei Monaten eine Abreicherung bezüglich des schweren Sauerstoffisotops beobachtet werden konnte, blieben bei Reh 5 und 7 die Werte nahezu konstant. Reh 9 zeigte eine deutliche Anreicherung um ca. 1 ‰.

Auch nach dem zweiten Beprobungsintervall war kein einheitlicher Trend auszumachen. Der $\delta^{18}\text{O}$ -Wert von Reh 1 stieg wieder auf das Ausgangsniveau an, während Reh 3 und Reh 9 kaum noch Veränderungen im Vergleich zum Dreimonatswert zeigten. Bei Reh 5 und 7 fielen die Werte jedoch deutlich ab, im Fall von Reh 5 mit $1,2$ ‰ recht stark (vgl. Abb. 8.4).

Der häufig als Diageneseindikator herangezogene Vergleich zwischen den $\delta^{18}\text{O}_{\text{phos}}$ - und $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ -Werten ist nach der Umrechnung der gegen den Standard V-PDB gemessenen Sauerstoffisotopendaten aus dem strukturellen Carbonat in den Phosphatstandard V-SMOW in Abb. 8.5 grafisch dargestellt.

Theoretisch sollten alle Werte desselben Individuums dieselbe Sauerstoffisotopensignatur aufweisen, da es sich bei den beprobten Knochen ausschließlich um Langknochen handelte, jedoch werden in der Grafik teilweise erhebliche Abweichungen sowohl der $\delta^{18}\text{O}$ -Werte aus dem Carbonat als auch aus dem Phosphat deutlich.

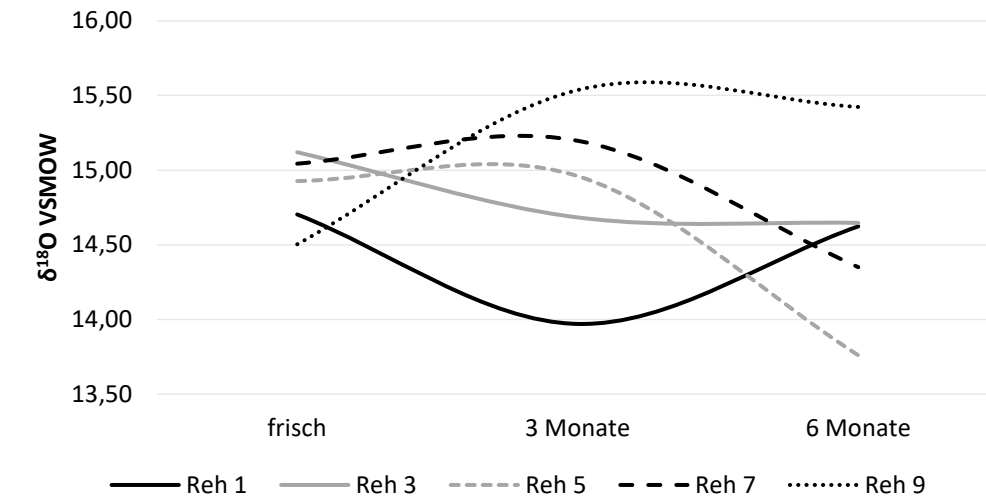


Abb. 8.4 Entwicklung der $\delta^{18}\text{O}$ -Werte aus dem Phosphat der unbestatteten Rehknochen über die Depositionszeit.

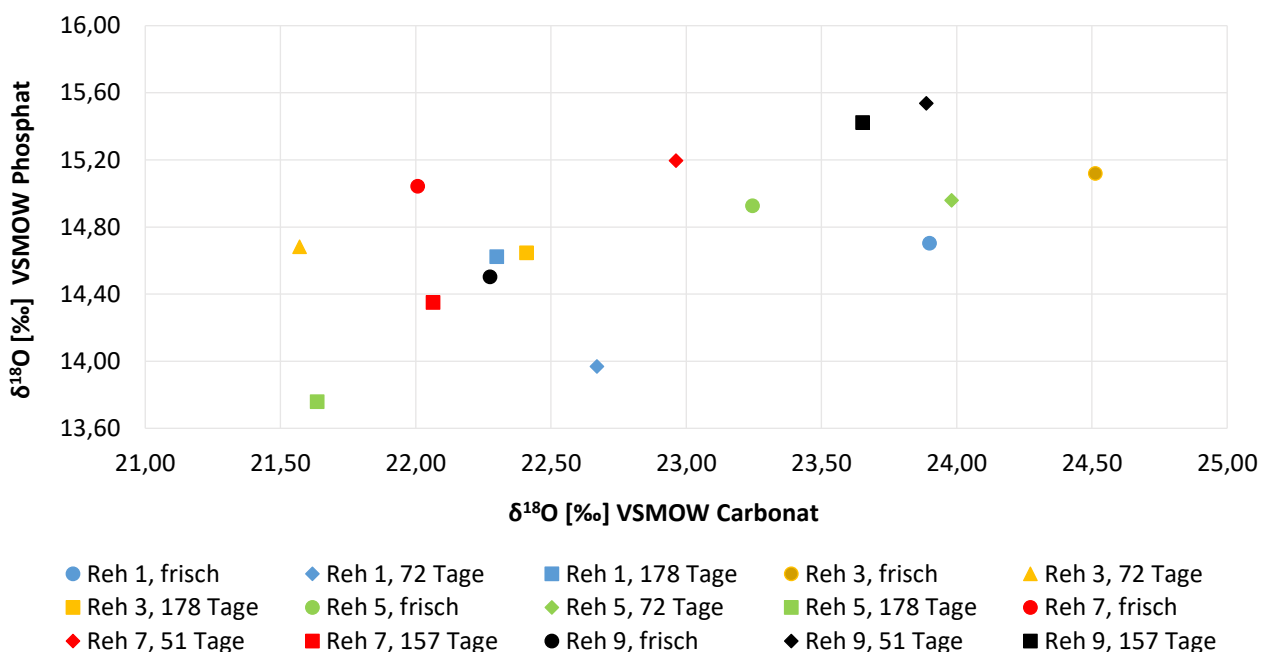


Abb. 8.5 Verhältnis der $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ - und $\delta^{18}\text{O}_{\text{phos}}$ -Werte in den unbestatteten Rehknochen. Die taphonomisch beeinflussten Proben unterschieden sich zum Teil deutlich von den frischen Referenzknochen.

Tabelle 8.15 fasst die gemessenen $\delta^{18}\text{O}$ -Werte für Carbonat und Phosphat, die Differenz der Werte (Carbonat-Phosphat-Spacing) sowie die Werte von zwei in der Literatur gängig für die Umrechnung von Carbonat in Phosphat verwendeten Regressionsgleichungen in einer Übersicht zusammen. Es wird deutlich, dass die größte Differenz zwischen den $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ - und $\delta^{18}\text{O}_{\text{phos}}$ -Werten der frischen und degradierten Proben bei Reh 3 auftrat (1,63 ‰), aber auch bei Reh 1 unterschieden sich die Werte (1,52 ‰). Bei Reh 5 war der Unterschied mit lediglich 0,44 ‰ nicht allzu hoch. In all diesen Proben sank der $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ -Wert im Verlauf der Degradation ab, was einer Abreicherung des schweren Isotops entspricht.

Tabelle 8.15 Zusammenfassung der $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ - und $\delta^{18}\text{O}_{\text{phos}}$ -Werte der unbestatteten Rehknochen.

	$\delta^{18}\text{O}_{\text{phos}}$	$\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$	$\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}} - \delta^{18}\text{O}_{\text{phos}}$	$\delta^{18}\text{O}_{\text{phos}}$ aus $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ nach Iacumin et al. (1996)	$\delta^{18}\text{O}_{\text{phos}}$ aus $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ nach Chenery et al. (2012)
Reh 1, frisch	14,70	23,90	9,20	14,92	14,98
Reh 1, 72 Tage	13,97	22,67	8,70	13,72	13,71
Reh 1, 178 Tage	14,62	22,30	7,68	13,35	13,33
Reh 3, frisch	15,12	24,51	9,39	15,52	15,62
Reh 3, 72 Tage	14,68	21,57	6,89	12,64	12,58
Reh 3, 178 Tage	14,65	22,41	7,76	13,46	13,45
Reh 5, frisch	14,93	23,25	8,32	14,28	14,31
Reh 5, 72 Tage	14,96	23,98	9,02	15,00	15,07
Reh 5, 178 Tage	13,76	21,64	7,88	12,70	12,65
Reh 7, frisch	15,04	22,01	6,96	13,07	13,03
Reh 7, 51 Tage	15,20	22,96	7,77	14,00	14,02
Reh 7, 157 Tage	14,35	22,06	7,71	13,12	13,09
Reh 9, frisch	14,50	22,28	7,77	13,33	13,31
Reh 9, 51 Tage	15,54	23,89	8,35	14,91	14,97
Reh 9, 157 Tage	15,42	23,65	8,23	14,68	14,73

Die Umrechnung der $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ - in $\delta^{18}\text{O}_{\text{phos}}$ -Werte anhand der von Iacumin et al. (1996) und Chenery et al. (2012) formulierten Regressionsgleichungen erwies sich bei den frischen Referenzproben von Reh 1 bis 5 als gut vergleichbar mit den tatsächlich gemessenen Werten. Die Berechnung wich jedoch für die nach drei bzw. 6 Monaten akquirierten Knochen teilweise deutlich von den Messwerten für $\delta^{18}\text{O}_{\text{phos}}$ ab. Dies war der Fall bei Reh 1 nach 178 Tagen, bei Reh 3 nach beiden Beprobungsintervallen und bei Reh 5 nach 72 Tagen. Im Fall der Individuen Reh 7 und 9 zeigten die berechneten Werte keinerlei Übereinstimmung mit den gemessenen Werten, auch nicht für die frischen Proben.

Der Vergleich zwischen $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ - und $\delta^{18}\text{O}_{\text{phos}}$ -Werten konnte aufgrund der geringen Anzahl der zur Verfügung stehenden Phosphat-Messwerte nicht erschöpfend ausgewertet werden. Bei den analysierten Rehknochen konnten im $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ - $\delta^{18}\text{O}_{\text{phos}}$ Spacing auffällige Proben tatsächlich mit dem destruktiven Einfluss von Schimmel- bzw. Algenbefall in Verbindung gebracht werden. In diversen Veröffentlichungen wurde von einer Anreicherung des schweren Sauerstoffisotops in den Algenzellen von Flechten berichtet, wenn diese von Austrocknung betroffen sind (Hartard et al. 2009). Es ist jedoch nicht klar, welcher Mechanismus zu einem Austausch des isotopisch leichteren, biogenen Sauerstoffs mit dem schweren Isotop führen könnte.

Der Apatit des Knochens ist eine attraktive Phosphorquelle für Mikroorganismen (z.B. Banfield et al. 1999) und könnte daher gezielt von Flechten bzw. Algen ausgebeutet werden. Flechten produzieren eine Reihe organischer Säuren, welche sogar Silikatminerale auflösen können (Drever und Vance 1994). Auch wenn die histologischen Schnitte der Probe keine Anzeichen für Rekristallisation aufwiesen, kann dies dennoch nicht ausgeschlossen werden, da mit dem histologischen Schnitt nur ein lokales Abbild des Knochenzustandes erzielt werden kann, welches eventuell von dem des für die Isotopenanalysen verwendeten Knochenareals abweicht.

Die Untersuchung der Sauerstoffisotopie des Phosphats der acht frühdiagenetisch beeinflussten Proben ergab in Bezug auf das Verhältnis zwischen $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ und $\delta^{18}\text{O}_{\text{phos}}$ die in Abb. 8.6 dargestellte Verteilung der Werte. Tabelle 8.16 fasst zudem die gemessenen Werte für $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$, $\delta^{18}\text{O}_{\text{phos}}$, das Carbonat-Phosphat-Spacing sowie die theoretische Umrechnung der Carbonat- in Phosphatwerte anhand von zwei verschiedenen Regressionsgleichungen in einer Übersicht zusammen.

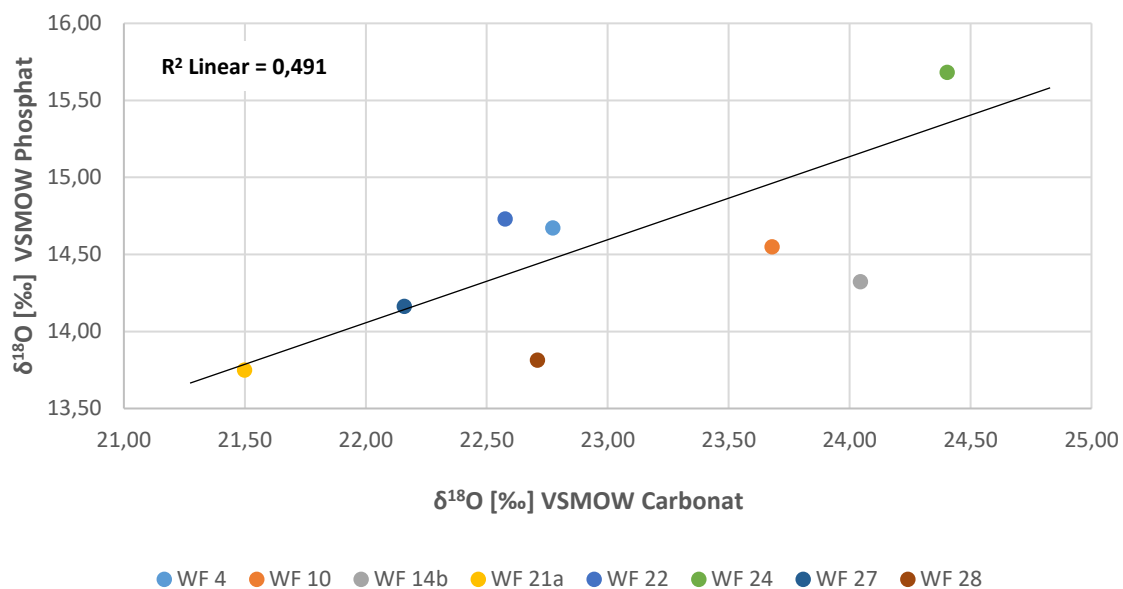


Abb. 8.6 Verhältnis der $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ - und $\delta^{18}\text{O}_{\text{phos}}$ -Werte in den acht analysierten Proben des Westfriedhofs.

Die Proben WF 21a und WF 22 wiesen ein im Vergleich zu den anderen Proben leicht erniedrigtes Carbonat-Phosphat-Spacing auf, welches mit Werten < 8 für menschliche Proben recht niedrig erscheint (Bryant et al. 1996, Martin et al. 2008, Pellegrini et al. 2011). Die theoretische Berechnung der Phosphat- aus den Carbonatwerten zeigte im Fall von WF 4, WF 21a, WF 22 und WF 24 die stärksten Differenzen im Vergleich zum Originalmesswert und betrug zwischen 0,9 und 1,2 ‰. Dennoch ist es umstritten, ob die Informationen dieser Werte auf diagenetische Veränderungen der mineralischen Matrix hindeuten (France und Owsley 2015).

Tabelle 8.16 Übersicht über die gemessenen $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ - und $\delta^{18}\text{O}_{\text{phos}}$ -Werte (V-SMOW), das Carbonat-Phosphat-Spacing sowie die theoretisch aus den Carbonatwerten berechneten Phosphatwerte der untersuchten Proben des Westfriedhofs.

	$\delta^{18}\text{O}_{\text{phos}}$	$\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$	$\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}} - \delta^{18}\text{O}_{\text{phos}}$	$\delta^{18}\text{O}_{\text{phos}}$ aus $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ nach Iacumin et al. (1996)	$\delta^{18}\text{O}_{\text{phos}}$ aus $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ nach Chenery et al. (2012)
WF 4	14,67	22,77	8,10	13,82	13,82
WF 10	14,55	23,68	9,13	14,71	14,76
WF 14b	14,32	24,04	9,72	15,06	15,13
WF 21a	13,75	21,50	7,75	12,57	12,51
WF 22	14,73	22,58	7,85	13,63	13,62
WF 24	15,68	24,40	8,72	15,42	15,50
WF 27	14,16	22,16	8,00	13,22	13,19
WF 28	13,81	22,71	8,90	13,76	13,76

Reitsema (2013) legte in ihrer Arbeit dar, dass Diabetes mellitus einen Fraktionierungseffekt hinsichtlich der isotopischen Zusammensetzung des Gewebes haben kann, da im Zuge der Erkrankung ein wesentlich höherer Anteil an Flüssigkeiten aufgenommen wird und so der Sauerstoffpool im Körper zu einem geringeren Prozentsatz vom Wasser der konsumierten Nahrung bestimmt wird. Ein Zusammenhang mit erhöhten Carnosin-Konzentrationen des Kollagens, was ebenfalls mit einer möglichen Diabetes-Erkrankung diskutiert wurde, konnte jedoch nicht hergestellt werden. Jedoch führen auch andere Prozesse wie chronische Knochenresorption oder Niereninsuffizienz zu einer Fraktionierung des Sauerstoffs im Körper (Reitsema 2013, 5.1.4.2). Aufgrund der zahlreichen intravitalen Einflussfaktoren auf das $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ - $\delta^{18}\text{O}_{\text{phos}}$ -Verhältnis kann dieses nicht als Qualitätskriterium für diagenetische Veränderungen empfohlen werden.

e) Hintergründe der FTIR-Messungen

Das Prinzip der FTIR-Spektroskopie beruht auf der Detektion der Interferenz zweier Strahlen, welche unterschiedliche Strahlengänge aufweisen und so ein Interferogramm ergeben. Das Herzstück eines FTIR-Spektrometers ist damit üblicherweise ein Michelson-Interferometer, welches aus zwei senkrecht aufeinander stehenden Spiegelebenen besteht. Eine der Ebenen ist beweglich und verändert während der Messung seine Position. Ein teildurchlässiger Strahlenteiler sendet das auftreffende Licht im 90° Winkel jeweils zu den beiden Spiegeln, welche die Lichtstrahlen zurück zum Strahlenteiler schicken. Für den mittleren Infrarotbereich (MIR, $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$), in welchem Messungen von Knochenmaterial stattfinden, besteht der Strahlenteiler aus KBr, da dieses im mittleren Wellenzahlenbereich keine Absorptionsbanden aufweist. Treffen die Lichtstrahlen erneut zusammen, rekombinieren sie sich unter Erzeugung konstruktiver und destruktiver Interferenzen. Der so entstandene neue Lichtstrahl durchdringt die Probe, welche alle für die Substanz

charakteristischen Wellenlängen absorbiert und somit einen Teil der Wellenlängen vom Interferogramm subtrahiert. Anhand einer mathematischen Operation, der Fourier-Transformation, wird dieses Signal in ein Spektrogramm umgewandelt (Stuart 2004). Feststoffe müssen vor der Messung mit einem Trägermaterial gemischt werden, meist mit einem Alkalihalid – KBr im MIR-Bereich.

Die gute Eignung der FTIR-Analytik für Knochenmaterial ist darauf zurückzuführen, dass die Anregung der Molekülbindungen nicht auf ein regelmäßiges Kristallgitter oder einen homogenen Feststoffcharakter angewiesen ist (z.B. Beniash et al. 1997, Politi et al. 2004). Die gewonnenen Spektren reflektieren die Absorptionsbanden der korrespondierenden Schwingungsrichtungen der Molekülbindungen, wobei die Wellenzahl die jeweilige Bindung identifiziert und die Intensität und Breite der Banden mit dem Ordnungsgrad des Kristalls und der Kristallgröße in Bezug stehen (King et al. 2011, Trueman 2013).

f) Hintergründe der Raman-Messungen

Die Raman-Spektroskopie, wie die FTIR-Spektroskopie ebenfalls eine Art der Vibrationsspektroskopie, ist benannt nach dem indischen Physiker Chandrasekhara Venkata Raman, welcher bereits im Jahr 1928 den Raman-Effekt entdeckte und 2 Jahre später den Nobelpreis für seine Forschungen erhielt. Dennoch konnte die Raman-Spektroskopie erst mit der Entwicklung des Lasers ab den 60er Jahren des 20. Jahrhunderts routinemäßig angewandt werden (Schmitt und Popp 2006).

Bei der Bestrahlung von Molekülen mit monochromatischem Licht wird dieses gestreut und in Spektrallinien zerlegt, welche gegenüber der Frequenz der Lichtquelle verschoben sind. Die Wechselwirkung des oszillierenden elektrischen Felds einfallender Photonen mit einem Molekül wird als Stoß verstanden, der auf drei verschiedene Arten ablaufen kann, wobei die Punkte 2. und 3. den Raman-Effekt beschreiben (Bazin et al. 2009, Smith und Clark 2004):

1. Weder der Energiezustand des Moleküls noch die Frequenz der Streustrahlung im Vergleich zu der des einfallenden Lichts verändern sich. Diese Art der elastischen Streuung wird als Rayleigh-Streuung bezeichnet.
2. Das Molekül wird auf eine höhere Energiestufe angehoben und das Streulicht ist energieärmer als das einfallende Licht. Die auf diese Weise erzeugten Spektrallinien werden als Stokes-Linien bezeichnet.
3. Das Molekül verliert an Energie, das Streulicht weist eine höhere Frequenz auf als das einfallende Licht. Die so entstehenden Spektrallinien werden als Anti-Stokes-Linien bezeichnet.

Die so erzeugten Zustände der Schwingungsenergie werden durch die Raman-Spektroskopie indirekt erfasst, während die Infrarot-Absorptionsspektroskopie (FTIR) diese direkt analysiert. Daher sind die im Zuge von Raman-Analysen gewonnenen Informationen ähnlich derer von IR-Untersuchungen und werden als komplementär verstanden (Freeman et al. 2001, Smith und Clark 2004).

Anregungslaser mit höherer Frequenz führen zu einer intensiveren Raman-Streuung und reduzieren Fluoreszenzinterferenzen, jedoch reduzieren sich bei sehr langwelligem NIR-Lasern

(Nd:YAG) Ortsauflösung und Raman-Streuung im Vergleich zu Lasern aus dem sichtbaren Lichtspektrum. Für die Untersuchung von Knochenmaterial bewährt haben sich Dioden-Laser aus dem mittleren NIR-Bereich (785 – 830 nm) (Smith und Clark 2004).

Abb. 8.7 zeigt den schematischen Aufbau eines konfokalen Raman-Mikroskops (microRaman), wie es in dieser Arbeit verwendet wurde. Ramanspektren werden typischerweise als Raman Shift [cm^{-1}] aufgetragen, während IR-Spektren die absolute Wellenzahl [cm^{-1}] wiedergeben.

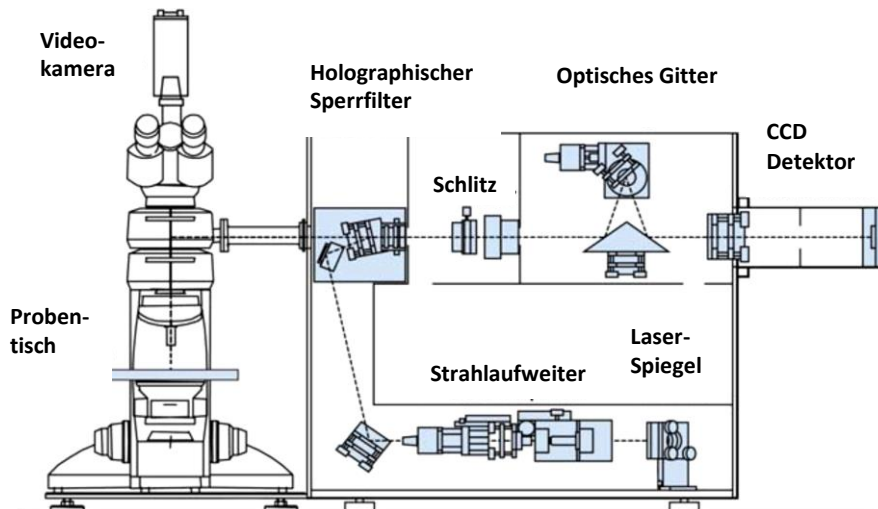


Abb. 8.7 Schematischer Aufbau eines konfokalen Raman-Mikroskops (nach Smith und Clark 2004).

Raman-Spektroskopie wird mitunter als die beste Einzelmethode bezeichnet, um anorganische Feststoffe zu untersuchen und zu identifizieren, insbesondere, wenn es sich um heterogene Gemische in kleinem Maßstab handelt (Clark 1995, Gendron et al. 2002). Dies ist auf die hohe molekulare Spezifität, die zerstörungsfreie Messmethodik (France et al. 2014, Freeman et al. 2001), die Möglichkeit der *in situ* Messung, das hohe spektrale und räumliche Auflösungsvermögen, die Analysierbarkeit großer oder unregelmäßig geformter Proben sowie die relativ geringe Anfälligkeit für Interferenzen zurückzuführen (Smith und Clark 2004). Aus diesen Gründen wird die Raman-Spektroskopie gerne für die Analyse und kristallchemische Interpretation von Apatiten verwendet, was auch die Untersuchung von Knochenmineral einschließt (Awonusi et al. 2007, Carden und Morris 2000, Wopenka und Pasteris 2005). Dadurch lassen sich nicht nur Informationen über die mineralische Komponente gewinnen, auch die organische Fraktion kann so parallel analysiert werden (z.B. Halcrow et al. 2014, France et al. 2014).

Mithilfe des Mikroskops können gezielt bestimmte Bereiche innerhalb der Probe analysiert werden. Für die Darstellung größerer Bereiche werden Rasteraufnahmen angefertigt, was als Mapping bezeichnet wird.

g) Besonderheiten in der isotopischen Zusammensetzung der frischen Rehknochen

Besonders auffällig waren die extrem niedrigen $\delta^{15}\text{N}$ -Werte in den Knochen von Reh 1, welche sich zwischen 1,3 ‰ und 1,9 ‰ bewegten. Ein derart abgereichertes Stickstoff-Isotopenverhältnis ist typischerweise nur für das Knochenkollagen von Winterschläfern wie Bären beschrieben (z.B. Fernández-Mosquera et al. 2001). Rehe sind ausgesprochene Futterselektierer und ernähren sich vorzugsweise von nährstoffreichen Pflanzenteilen wie Knospen, Trieben oder Früchten wie Eicheln und Bucheckern, weshalb sie auch als „Konzentrat-Selektierer“ bezeichnet werden (Krebs 1993). Je nach bevorzugt genutzter Nahrungsquelle können die jeweiligen Isotopensignaturen in den Individuen daher stark variieren. Junge Triebe weisen beispielsweise niedrigere $\delta^{15}\text{N}$ -Werte auf als älteres pflanzliches Gewebe (Austin und Sala 1999). Auch gehören Leguminosen wie Klee (*Trifolium spec.*) zu den präferierten Nahrungsquellen von Rehen. Leguminosen sind in der Lage, mithilfe symbiontischer Bakterien Stickstoff aus der Luft zu fixieren und weisen daher sehr niedrige $\delta^{15}\text{N}$ -Werte auf (z.B. Unkovich 2013). Auch die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte sind bei Leguminosen wie Luzerne in Bezug auf das schwere Isotop eher abgereichert (Sponheimer et al. 2003), was zu den niedrigen Werten aus den Knochen von Reh 1 passen würde. Bocherens (2003) fand in seiner Studie sehr niedrige $\delta^{15}\text{N}$ -Werte in den Knochen von Elchen und erklärte dies durch eine hauptsächlich auf Laub basierte Ernährung (Guthrie 1982), was wiederum mit dem Baldachin-Effekt in Verbindung gebracht werden kann. Der Baldachin-Effekt bezeichnet die Abnahme der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte in der Biomasse unter geschlossenen Laubkronen infolge der Anreicherung des leichten Isotops. In den Blättern der Bäume findet bei der CO_2 -Aufnahme eine starke Diskriminierung gegen das schwere Isotop statt. Fallen die Blätter ab, reichert sich in der Umgebung des Baumes mehr und mehr das leichte Isotop an, was in Extremfällen zu lokalen $\delta^{13}\text{C}$ -Werten von bis zu -37‰ führen kann (Ambrose 1993, van der Merwe und Medina 1991).

Die plausibelste Erklärung ist jedoch der quantitative Konsum von Fichtentrieben. Koopmans et al. (1997) berichten für die Nadeln von Douglas-Tannen und anderen Koniferen von $\delta^{15}\text{N}$ -Werten im Bereich von -5 ‰ bis -4 ‰, wobei die Werte in jungen Nadeln noch niedriger sein können (bis -6 ‰). Die im Zuge des Trophiestufeneffekts postulierte Anreicherung des schweren Isotops um 3 bis 6 ‰ in den Geweben des Rehs als Konsumenten der pflanzlichen Nahrung (vgl. 1.4.1, Katzenberg und Lovell 1999) verschob das Isotopenverhältnis in den positiveren Bereich, jedoch blieb der $\delta^{15}\text{N}$ -Wert insgesamt dennoch recht niedrig. Da es sich außerdem bei Individuum 1 um einen Jährlingsbock handelte, dürfte so auch das vermutlich noch im Kollagen des Knochens persistierende Stillsignal, welches normalerweise für eine Verschiebung des $\delta^{15}\text{N}$ -Werts um etwa + 2-3 ‰ verantwortlich ist (z.B. Fuller et al. 2006, 1.4.1), durch das sehr negative Isotopenverhältnis der Nahrung überlagert werden.

h) Literaturverzeichnis Anhang

- Austin, A. T.; Sala, O.E. (1999): Foliar $\delta^{15}\text{N}$ is negatively correlated with rainfall along the IGBP transect in Australia. *Australian Journal of Plant Physiology* 26: 293-295.
- Banfield, J. F.; Barker, W. W.; Welch, S. A.; Taunton, A. (1999): Biological impact on mineral dissolution: application of the lichen model to understanding mineral weathering in the rhizosphere. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 96 (7): 3404-3411.
- Bazin, D.; Chappard, C.; Combes, C.; Carpentier, X.; Rouzière, S.; André, G.; Matzen, G.; Allix, M.; Thiaudière, D.; Reguer, S.; Jungers, P.; Daudon, M. (2009) Diffraction techniques and vibrational spectroscopy opportunities to characterise bones. *Osteoporosis International* 20 (6): 1065-1075.
- Beniash, E.; Aizenberg, J.; Addadi, L.; Weiner, S. (1997): Amorphous calcium carbonate transforms into calcite during sea urchin larval spicule growth. *Proceedings: Biological Sciences* 264 (1380): 461-465.
- Bocherens, H. (2003): Isotopic biogeochemistry and the paleoecology of the mammoth steppe fauna. *Deinsea* 9: 57-76.
- Chenery, C.; Pashley, V.; Lamb, A.L.; Sloane, H.J.; Evans, J. (2012): The oxygen isotope relationship between the phosphate and structural carbonate fractions of human bioapatite. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 26 (3): 309-319.
- Clark, R.J.H. (1995): Pigment identification on Medieval manuscripts by Raman microscopy. *Journal of Molecular Structure* 347: 417-428.
- Condon, G.D. (1986): Amino acid analysis. Theory & Laboratory Techniques. LKB Biochrom, Cambridge.
- Crowson, R.A.; Showers, W.J.; Wright, E.K.; Hoering, T.C. (1991): Preparation of phosphate samples for oxygen isotope analysis. *Analytical Chemistry* 63 (20): 2397-2400.
- Drever, J. I.; Vance, G. F. (1994): Role of soil organic acids in mineral weathering processes. In Pittman, E.D.; Lewan, M.D. (Hrsg.): *Organic acids in geological processes*. Springer, Berlin, Heidelberg: 138-161.
- Fernández-Mosquera, D.; Vila-Taboada, M.; Grandal-d'Anglade, A. (2001): Stable isotopes data ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$) from the cave bear (*Ursus spelaeus*): a new approach to its palaeoenvironment and dormancy. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 268 (1472): 1159-1164.
- Fountoulakis, M.; Lahm, H.-W. (1998): Hydrolysis and amino acid composition analysis of proteins. *Journal of Chromatography A* 826 (2): 109-134.
- Fuller, B. T.; Fuller, J. L.; Harris, D. A.; Hedges, R. E. (2006): Detection of breastfeeding and weaning in modern human infants with carbon and nitrogen stable isotope ratios. *American Journal of Physical Anthropology* 129 (2): 279-293.
- Gendron, F.; Smith, D.C.; Gendron-Badou, A. (2002): Discovery of jadeite-jade in Guatemala confirmed by non-destructive Raman microscopy. *Journal of Archaeological Science* 29 (8): 837-851.
- Guthrie, R. D. (1982): Mammals of the mammoth steppe as paleoenvironmental indicators. In Hopkins, D.M.; Matthews, J.V.; Schweger, C.E.; Young, S.B. (Hrsg.): *Paleoecology of Beringia*. Academic Press, New York, London, Paris, San Diego, San Francisco, São Paulo, Sydney, Tokyo, Toronto: 307-326.
- Joachimski, M.M.; Breisig, S.; Buggisch, W.; Talent, J.A.; Mawson, R.; Gereke, M.; Morrow, J.R.; Day, J.; Weddige, K. (2009): Devonian climate and reef evolution: Insights from oxygen isotopes in apatite. *Earth and Planetary Science Letters* 284 (3-4): 599-609.
- Koopmans, C. J.; van Dam, D.; Tietema, A.; Verstraten, J. M. (1997): Natural ^{15}N abundance in two nitrogen saturated forest ecosystems. *Oecologia* 111 (4): 470-480.

- Krebs, H. (1993): Vor und nach der Jägerprüfung. BLV, München, Wien, Zürich.
- Lécuyer, C.; Grandjean, P.; O'Neil, J.R.; Cappetta, H.; Martineau, F. (1993): Thermal excursions in the ocean at the Cretaceous—Tertiary boundary (northern Morocco): $\delta^{18}\text{O}$ record of phosphatic fish debris. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 105 (3-4): 235-243.
- Politi, Y.; Arad, T.; Klein, E.; Weiner, S.; Addadi, L. (2004): Sea urchin spine calcite forms via a transient amorphous calcium carbonate phase. *Science* 306 (5699): 1161-1164.
- Rott, A. (2011): Migration und Ökologie in einem mittelalterlichen Fernhandelszentrum untersucht anhand stabiler Isotope (Sr, O) Aufstieg und Niedergang des mittelalterlichen Schleswig. Diplomarbeit, Fakultät für Biologie, Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Schmitt, M.; Popp, J. (2006): Raman spectroscopy at the beginning of the twenty-first century. *Journal of Raman Spectroscopy* 37 (1-3): 20-28.
- Tudge, A.P. (1960): A method of analysis of oxygen isotopes in orthophosphate—its use in the measurement of paleotemperatures. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 18 (1-2): 81-93.
- Tütken, T.; Vennemann, T.W.; Janz, H.; Heizmann, E.P.J. (2006): Palaeoenvironment and palaeoclimate of the Middle Miocene lake in the Steinheim basin, SW Germany: A reconstruction from C, O, and Sr isotopes of fossil remains. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 241 (3-4): 457-491.
- Unkovich, M. (2013): Isotope discrimination provides new insight into biological nitrogen fixation. *New Phytologist* 198 (3): 643-646.
- van der Merwe, N.J.; Medina, E. (1991): The canopy effect, carbon isotope ratios and foodwebs in amazonia. *Journal of Archaeological Science* 18 (3): 249-259.
- Vennemann, T.W.; Fricke, H.C.; Blake, R.E.; O'Neil, J.R.; Colman, A. (2002): Oxygen isotope analysis of phosphates: a comparison of techniques for analysis of Ag_3PO_4 . *Chemical Geology* 185 (3-4): 321-336.
- Weiss, M.; Manneberg, M.; Juranville, J.-F.; Lahm, H.-W.; Fountoulakis, M. (1998): Effect of the hydrolysis method on the determination of the amino acid composition of proteins. *Journal of Chromatography A* 795 (2): 263-275.

Eidesstattliche Erklärung

Ich versichere hiermit an Eides statt, dass die vorgelegte Dissertation von mir selbständig und ohne unerlaubte Hilfe angefertigt ist.

München, den20.01.2017....., Nadja Hoke.....

Erklärung

Hiermit erkläre ich,

- ☒ dass die Dissertation nicht ganz oder in wesentlichen Teilen einer anderen Prüfungskommission vorgelegt worden ist.
- ☒ dass ich mich anderweitig einer Doktorprüfung ohne Erfolg **nicht** unterzogen habe.

München, den.....20.01.2017....., Nadja Hoke.....

Danksagung

Ich bin zahlreichen Menschen zu Dank verpflichtet, die einen Beitrag zur Erstellung meiner Arbeit geleistet bzw. mich auf dem langen, nicht immer einfachen Weg bis zur Abgabe unterstützt haben. Ich bin dankbar für die Erfahrungen, die ich gesammelt und die Menschen, die ich kennengelernt habe.

Ganz besonders bedanken möchte ich mich bei den Mitgliedern meiner Prüfungskommission, die ihre Zeit in die Korrektur meiner Arbeit investiert haben. Explizit erwähnen möchte ich dabei Herrn PD Dr. Albert Zink, der sich dazu bereit erklärt hat, mein Erstgutachten zu übernehmen, sowie Herrn Prof. Dr. Herwig Stibor für die Anfertigung des Zweitgutachtens.

Ohne die hervorragende Betreuung von Frau Dr. Michaela Harbeck, die mir nicht nur in fachlichen, sondern auch in menschlichen Belangen stets helfend zur Seite stand, hätte ich mein Ziel wohl nie erreicht. Danke für die wunderbare Zusammenarbeit und die vielen Momente, in denen wir zusammen lachen konnten.

Ich möchte mich außerdem bei Frau Prof. Dr. Gisela Grupe für die Bereitstellung des Themas bedanken, für die Anfertigung des Gutachtens für mein Stipendium sowie für die Möglichkeit, Teil der Arbeitsgruppe zu sein, die wie meine zweite Familie geworden ist.

Mein besonderer Dank gilt außerdem dem Dekan der Fakultät für Biologie, Herrn Prof. Dr. Heinrich Leonhardt, sowie Frau Prof. Dr. Ute Vothknecht.

Auch den Mitgliedern meiner Arbeitsgruppe möchte ich herzlich danken für die gegenseitige Hilfe, die Freundschaft und die kleinen Kaffeepäuschen, die den Alltag aufgelockert haben. Besonders ohne meine Freunde Frau Dr. Marina Vohberger (mit Sammy), Frau Nadine Carlich-Witjes und Herrn Andreas Rott hätte die Arbeit nicht halb so viel Spaß gemacht. Bedanken möchte ich mich außerdem bei Herrn Salah Soliman, der immer ein freundliches Wort für mich hatte, wenn ich im Labor war, und für die vielen interessanten Gespräche.

Ich danke den Mitarbeitern der Staatssammlung für Anthropologie und Paläoanatomie München, die mich stets mit offenen Armen empfangen und mich unterstützt haben.

Zu besonderem Dank bin ich außerdem unseren Projektpartnern an der Fakultät für Geowissenschaften, Department für Geo- und Umweltwissenschaften, verpflichtet, insbesondere Frau Dr. Melanie Kaliwoda, Frau Dr. Amanda Günther, Herrn Dr. Rupert Hochleitner sowie Herrn Alexander Reul und Herrn Alexander Beck für die Raman- und FTIR-Messungen, das freundschaftliche Verhältnis und die vielen netten Gespräche, an die ich mich gerne zurück erinnere. Besonders erwähnen möchte ich an dieser Stelle außerdem Herrn Prof. Dr. Karl Thomas Fehr, der am 18. März 2014 völlig unerwartet und plötzlich verstorben ist und eine große, unüberbrückbare Lücke hinterlassen hat.

Mein Dank gilt außerdem Herrn PD Dr. Alexander Gigler sowie Herrn Prof. Dr. Wolfgang Schmahl.

Ich möchte mich bei Herrn Prof. Dr. Dr. Joris Peters für die Vermittlung des Taphonomieprojektes im Nationalpark Bayerischer Wald bedanken sowie bei Herrn Dr. Marco Heurich von der Nationalparkverwaltung. Insbesondere gilt mein Dank Herrn Christian Fiderer, dessen Bachelorarbeit die Auslegung der Rehkadaver beinhaltete und mit dem ich die Rehe durch den Wald

geschleppt habe, sowie Herrn Martin Gahbauer, der auch einen ganzen Tag dafür geopfert hat, mit mir kreuz und quer durch den Wald zu fahren, um Rehskelette aufzuspüren.

Ich danke der Friedhofsverwaltung München für die unkomplizierte Hilfe sowie den Grabmachern des Westfriedhofs und Frau Dr. Martina Kaserer für die nette und freundschaftliche Zusammenarbeit. So war es auch nicht so schlimm, morgens um 7 Uhr bei Wind und Wetter auf dem Friedhof herumzulaufen.

Ferner möchte ich mich bei Herrn Dr. Christian Braun vom Institut für Rechtsmedizin der LMU München für die Bereitstellung der frischen Spenderfemora bedanken sowie bei Frau Dr. Sophia Johler-Ilic und Herrn Prof. Dr. Roger Stephan vom Institut für Hygiene und Lebensmittelsicherheit der Universität Zürich für die großzügige Hilfe bei der Animpfung der anaeroben Bakterien.

Mein Dank gilt weiterhin Herrn Prof. Dr. Michael Joachimski und Frau Daniele Lutz von der Universität Erlangen (GeoZentrum Nordbayern) für die Unterstützung bei der Etablierung der Phosphatextraktion und der Fehlersuche bei der Stabilisierung der Standards.

Weiterhin möchte ich mich bei Herrn Florian Wagner vom HelmholtzZentrum München für die sehr großzügige und unkomplizierte Hilfe bei der Gammabestrahlung der Knochen des bakteriellen Degradationsexperiments bedanken.

Herrn Klaus Macknapp vom Deutschen Museum München verdanke ich ferner den unkomplizierten Zugang zum Rasterelektronenmikroskop, herzlichen Dank dafür.

Ich bedanke mich ganz herzlich bei Herrn Anton Würfl vom Stipendienreferat der LMU für die stets freundliche Hilfe bei allen Fragen sowie bei Frau Sandra Buschsieweke von der Fakultät für Biologie bei der Unterstützung meiner Sachmittelverwaltung. Auch den Mitgliedern des ArchaeBioCenters der LMU gilt mein besonderer Dank.

Schließlich möchte ich mich auch bei all den Praktikanten und Abschlusskandidaten bedanken, die mich bei der praktischen Arbeit unterstützt haben.

Natürlich wäre die Durchführung meiner Arbeit ohne meine Freunde, meine Mutter und meine Brüder, die immer an mich geglaubt haben, nicht möglich gewesen. Ich danke Herrn Nicholas Esposito für die Hilfe bei meinem manchmal aussichtslos erscheinenden Kampf mit Microsoft Word, trotz einer Distanz von Sechseinhalbtausend Kilometern, und besonders Herrn Joseph Hartwell, der immer für mich da war, mich bedingungslos unterstützt und mir gezeigt hat, dass das Glas eigentlich immer halb voll ist. Nicht vergessen möchte ich außerdem meine treue Begleiterin Roxie, der ich so unendlich viel zu verdanken habe.

Leider hat meine Großmutter, Frau Marianne Wicklein, die am 06. Oktober 2014 verstorben ist, den Abschluss meiner Arbeit nicht mehr erleben können. Sie wäre sicher stolz auf mich gewesen.